

LIBRARY
MARBURG

MARBURG

1968

Eine Untersuchung über den Einfluß von
 6α -METHYL- 17α -HYDROXY-PROGESTERONAZETAT
auf die Ausscheidung von hypophysären
Gonadotropinen, Keimdrüsensteroiden
und Nebennierenrindensteroiden im Harn
bei Frauen in der Postmenopause

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Gerhard Leyendecker

aus Kirchhellen, Krs. Recklinghausen

Marburg 1968

Aus der Universitäts-Frauenklinik in Marburg (Lahn)

Direktor: Professor Dr. med. R. Buchholz

Eine Untersuchung über den Einfluß von
6 α -METHYL-17 α -HYDROXY-PROGESTERONAZETAT
auf die Ausscheidung von hypophysären
Gonadotropinen, Keimdrüsensteroiden
und Nebennierenrindensteroiden im Harn
bei Frauen in der Postmenopause

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Gerhard Leyendecker

aus Kirchhellen, Krs. Recklinghausen

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 22. 2. 1968

Gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert
Referent: Prof. Dr. med. R. Buchholz
Correferent: Prof. Dr. med. W. Schmid

Meinen Eltern

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

- A. Allgemeiner Teil
 - I. Einleitung
 - II. Die physiologischen Ausscheidungsverhältnisse der Gonadotropine und Keimdrüsenhormone
 - III. Die Beeinflussung der Gonadotropinausscheidung durch Keimdrüsenhormone und ihnen verwandte synthetische Steroide

- B. Experimenteller Teil
 - I. Untersuchungsmaterial und Methodik
 - 1. Untersuchungsmaterial
 - 2. Steroidbestimmungen
 - 3. Extraktionsverfahren
 - 4. Biologische Bestimmungsmethode
 - a. Anordnung der Tierversuche
 - b. mathematisch-statistische Auswertung
 - II. Ergebnisse
 - III. Diskussion

- C. Zusammenfassung

- D. Literaturangaben

- E. Abbildungen und Tabellen

- F. Lebenslauf

Digitized by the Internet Archive
in 2026

VERZEICHNIS
DER
BENUTZTEN ABKÜRZUNGEN

DHA	Dehyd <u>re</u> piandrosteron
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
HMG	Postmenopausenuringonadotropin
HPG	menschliches hypophysäres Gonadotropin
ICSH	zwischenzellstimulierendes Hormon
17-KS	17-Ketosteroide
17-OHCS	17-Hydroxycorticosteroide
6-MAP	6 α -methyl-17 α -hydroxy-Progesteronazetat
PD	Pregnandiol
PT	Pregnenetriol
Oe	Oestrogene
Oe ₁	Oestron
Oe ₂	Oestradiol-17 β
Oe ₃	Oestriol

A. Allgemeiner Teil

=====

I. Einleitung

Der Beginn der Hormonforschung ist eng verknüpft mit den Namen BROWN-SEQUARD, CUSHING, ASCHNER, ASCHHEIM und ZONDEK. Nach subcutaner Injektion von Testikelsaft bemerkte BROWN-SEQUARD (1889) an seinem Körper eine eigenartige Verjüngung, die sich in überraschender Zunahme der physischen, sexuellen und cerebralen Leistungsfähigkeit äußerte. Wenn dieser Versuch der Kritik auch nicht standhielt und die Ergebnisse sich schließlich als Autosuggestion erwiesen (ZONDEK, 1931), so wurde damit jedoch zumindest die Möglichkeit einer heute allgemein gebräuchlichen Anwendung endokrinologischer Kenntnisse angedeutet: die Substitution einer endokrinen Drüse.

In der Folgezeit konnte nachgewiesen werden, daß der Adenohypophyse bei der Regulation der Keimdrüsenfunktion eine zentrale Stellung zukommt (ASCHNER, 1912; ZONDEK, 1926, 1931; ASCHHEIM, 1926). Der Hypophysenvorderlappen wurde als "Motor der Sexualfunktion" (ZONDEK, 1926) erkannt, wobei allerdings zwischen der Inkretion von Adenohypophyse und Keimdrüsen eine wechselseitige funktionelle Abhängigkeit besteht (DOHRN & HOHLWEG zit. nach HOHLWEG & JUNKMANN, 1932).

Bald darauf postulierten HOHLWEG & JUNKMANN (1932) ein "Sexualzentrum" im Zwischenhirn, das als übergeordnete Regulationsstelle die innere Sekretion von HVL und Keimdrüsen beherrscht. Klinische Beobachtungen (TIETZE, 1948; WESTMAN, 1953) und vor allem Tierversuche (WESTMAN, 1953, 1953a) erbrachten den Nachweis, daß die Annahme eines Sexual-zentrums zu Recht besteht.

Es wird somit die Sexualfunktion durch einen Funktionskreis gesteuert, der Hypothalamus, Hypophyse und Keimdrüsen umfaßt (ELERT, 1953, 1953a; WESTMAN, 1953; BUCHHOLZ, 1957).

Hierbei bilden Hypothalamus und Hypophyse eine funktionelle Einheit, die durch sog. "releasing factors" bzw. "inhibiting factors" vermittelt wird, peptidartige Substanzen, die in Kernen des Hypothalamus gebildet werden und über die Portagefäße die gonadotrope Funktion der Hypophyse steuern (HARRIS, 1964, 1965).

Für die Regulation der gonadotropen - auch der gesamten glandotropen - Funktion der Adenohypophyse sind demnach grundsätzlich zwei Wege zu unterscheiden (ELERT, 1953a): erstens die *S e l b s t r e g u l a t i o n* durch die Schwankungen des Gleichgewichts zwischen gonadotropen und ovariellen Hormonen, wobei die selbstregulatorische Komponente der Keimdrüsenhormone in diesem Rückkopplungsmechanismus zumindest zum größten Teil über den Hypothalamus zur Wirkung kommt (BUCHHOLZ, 1957), und zweitens die *K o n t r o l l e* der gonadotropen Funktion der Adenohypophyse durch den Hypothalamus, der nervöse Impulse sowohl aus dem gesamten Vegetativum, als auch von kortikalen Zentren erhält.

Auf Grund der Vorstellungen vom Rückkopplungsmechanismus zwischen Keimdrüsen und HVL haben zahlreiche Forscher den Effekt der exogenen Zufuhr natürlicher Sexualsteroidoide und auch synthetischer Steroids Substanzen auf die gonadotrope Partialfunktion des Hypophysenvorderlappens untersucht, einmal, um eine Aussage über die Wirksamkeit dieser Substanzen in therapeutischer Hinsicht zu erhalten, zum anderen, um einen tieferen Einblick in die physiologischen Vorgänge, die das endokrine Geschehen beherrschen, zu gewinnen, wodurch exakte Diagnose und sinnvolle, gezielte Behandlung gynäkologisch-endokrinologischer Erkrankungen erst möglich werden.

Es ist die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die Beeinflussung der Hypophysenfunktion durch ein neues synthetisches Gestagen, das 6 α -methyl-17 α -hydroxy-Progesteronazetat, an Hand der Gonadotropinausscheidung im Harn bei Frauen in der Postmenopause zu untersuchen.

II. Die physiologischen Ausscheidungsverhältnisse der Gonadotropine und Keimdrüsenhormone

Es ist heute bekannt, daß der Hypophysenvorderlappen neben dem adrenokortikotropen Hormon (ACTH), dem thyreotropen Hormon (TSH) und dem somatotropen Hormon (STH) drei gonadotrope Substanzen produziert - das follikelstimulierende Hormon (FSH), das die interstitiellen Zellen stimulierende Hormon (ICSH) und das luteotrope Hormon (LTH) - , die alle aus t i e r i s c h e n Hypophysen in weitgehend reiner Form extrahiert werden konnten (Lit. bei DICZFALUSY & HEINRICHS, 1956), soweit man ihre Reinheit auf Grund der üblichen biologischen und physikalisch-chemischen Kriterien beurteilen kann (DICZFALUSY & HEINRICHS, 1956). Das gleiche gilt für die Gonadotropine, die aus autoptisch gewonnenen m e n s c h l i c h e n Hypophysen isoliert werden (APOSTOLAKIS & VOIGT, 1965).

Weitere gonadotrop wirkende Substanzen hypophysären Ursprungs sind das HMG (human menopausal gonadotropin) aus dem Urin von Frauen in der Postmenopause sowie die gonadotropen Substanzen, die im Harn von Männern, Kindern und nichtschwangeren Frauen in den einzelnen Zyklusphasen gefunden werden. Diese Gonadotropine und HMG sind anscheinend zumindest biologisch identisch (LORAINE & BROWN, 1956); deswegen werden die bei nichtschwangeren, geschlechtsreifen Frauen sowie bei Männern und Kindern ausgeschiedenen gonadotropen Aktivitäten auch als "HMG-Äquivalente ausgedrückt (DICZFALUSY & HEINRICHS, 1956).

Gonadotropine nicht hypophysären Ursprungs sind das PMS aus dem Serum trächtiger Stuten und das HCG, das gonadotrope Prinzip der menschlichen Plazenta (PHILIPP, 1953), das unter physiologischen Umständen im Urin nur während der Schwangerschaft nachgewiesen werden kann (APOSTOLAKIS & VOIGT, 1965).

Über den Sekretionsmodus der Gonadotropine aus der Hypophyse und die Form, in der sie in den Blutkreislauf gelangen,

ist noch wenig bekannt (APOSTOLAKIS & VOIGT, 1965). Es läßt sich daher noch nicht sagen, ob die mit dem Harn ausgeschiedenen gonadotrop wirksamen Substanzen mit den aus Hypophysen extrahierten Gonadotropinen chemisch identisch sind. Man weiß lediglich (LORAINE & BROWN, 1956), daß menschliche, mit dem Harn ausgeschiedene Gonadotropine im Tierexperiment sowohl eine follikelstimulierende, als auch eine die interstitiellen Zellen stimulierende Wirkung entfalten. Es wird daher empfohlen (DICZFALUSY & HEINRICHS, 1956), bei den im H a r n ausgeschiedenen gonadotropen Substanzen bis zur endgültigen Klärung lediglich von einer FSH- und ICSH-"Aktivität" zu sprechen und sie nicht als zwei verschiedene Substanzen zu betrachten. Allerdings wird der Vorstellung, daß es sich bei den FSH- und ICSH-Aktivitäten im Urin um verschiedene Substanzen handelt, heute der Vorzug gegeben.

Einen Überblick über die Ausscheidungsverhältnisse von Gonadotropinen, Östrogenen und Androgenen bei Mädchen und Frauen aller Altersstufen gibt die Arbeit von PEDERSEN-BJERGAARD & TØNNESEN (1948). Die Ergebnisse wurden an Hand der Harnausscheidung von 360 Personen im Alter von 3 - 79 Jahren gewonnen. Das Ziel ihrer Untersuchungen über die normalen Ausscheidungsverhältnisse der Sexualhormone sehen die Autoren darin, auf Grund der Ergebnisse eine Basis zu erhalten, von der aus Resultate von Hormonbestimmungen anderer Patientinnen klinisch beurteilt werden können. Allerdings geben die Autoren ihre Ergebnisse in Tiereinheiten an, was einen Vergleich mit anderen Untersuchungsergebnissen nur bedingt ermöglicht; denn die Tiere, die zum biologischen Test verwendet werden, differieren in ihrer Reaktion auf Hormongaben sehr stark je nach Rasse, Zucht, Futter, Klima und augenblicklicher Reaktionslagen, Störfaktoren, die sich nur schwer innerhalb eines Laboratoriums - für mehrere Laboratorien praktisch überhaupt nicht - einheitlich ausschalten lassen (BORTH, DICZFALUSY & HEINRICHS, 1957). Insofern können die Ergebnisse nur als

Orientierung dienen. Die Kurven (Abb. 1-3), die die Durchschnittswerte von Bestimmungen aus drei Jahren darstellen, zeigen im einzelnen folgendes:

Bis zur Pubertät ist die Menge des ausgeschiedenen G o n a - d o t r o p i n s kaum nachweisbar. Nach einem leichten Anstieg während der Pubertät auf ca. 15 R.E./die fällt die Ausscheidung wieder auf 9 R.E. ab und bleibt auf diesem Niveau bis zum Beginn der Menopause. Von da an bis zum 70. Lebensjahr steigt die Ausscheidung auf etwa 65 R.E./die an. Nach dem 70. Lebensjahr scheint eine Tendenz zu niedrigeren Werten zu bestehen.

Vor der Pubertät erscheinen die ö s t r o g e n e n Substanzen ebenfalls nur in geringen Mengen im Harn. Mit dem Beginn der Geschlechtsreife kommt es zu einem plötzlichen Anstieg auf hohe Werte, gefolgt von einem zunächst ebenso raschen, dann allmählicheren Abfall der Werte nach der Menopause.

Die A n d r o g e n a u s s c h e i d u n g zeigt nach der Pubertät einen allmählichen Anstieg mit einem Gipfel von 8 K.E./die um das 30. Lebensjahr. Während der folgenden Jahre fallen die Werte ständig bis auf 1 K.E. ab.

Die Kurven demonstrieren somit eindrucksvoll die Beziehung der Keimdrüsen- und Hypophysenfunktion untereinander und zum Alter. Summarisch läßt sich sagen, daß während der Geschlechtsreife die glandogenen Hormone vorherrschen und die Gonadotropine dem gegenüber in nur geringen Mengen ausgeschieden werden. Mit Einsetzen der Menopause verändert sich die Relation ins Gegenteil: nun dominiert die Gonadotropinausscheidung als Ausdruck der Enthemmung der Hypophyse durch die funktionelle Reduktion der Ovarien. Diese Wechselbeziehung zeigt deutlich Abb. 4, in der die Kurven der Abb. 1-3 übereinander gezeichnet sind (UFER, 1959).

Die Reaktion der Hypophyse im Sinne einer vollkommenen Entzügelung, d.h. Anstieg der Gonadotropinausscheidung noch über das Niveau der Menopause, zeigt sich nach Kastration (EVANS & SIMPSON, 1950; ALBERT, 1956) und ist identisch mit der von BUCHHOLZ (1961) gemachten Beobachtung, daß nach radiologischer Behandlung eines Genitalkarzinoms bei Frauen in der Menopause eine zusätzliche Vermehrung der hypophysären Gonadotropine eintritt. Durch die genannte Behandlung, die ja einer Kastration gleichkommt, entfällt auch die letzte in der normalen Menopause noch vorhandene Östrogenproduktion des Ovars und damit die letzte geringe Hemmwirkung auf die Hypophyse (BUCHHOLZ, 1961).

Der Abfall der Gonadotropinausscheidung im hohen Senium, der auch von ALBERT (1956) beobachtet wurde, scheint der Ausdruck der in diesem Alter allgemein nachlassenden Vitalität zu sein (PEDERSEN-BJERGAARD & TØNNESEN, 1948).

Von größerem klinischen als auch theoretischem Interesse, d.h. aufschlußreicher für das Verständnis der Physiologie des weiblichen Endokriniums, sind Untersuchungen, die sich mit der Ausscheidung der Gonadotropine und Keimdrüsenhormone während einer kürzeren Zeitspanne - dem mensuellen Zyklus - befassen. Dabei hat sich allgemein gezeigt, daß der qualitative Nachweis der Hormone zur Erklärung der Vorgänge im Zyklus nicht ausreicht, sondern daß dem zyklischen Geschehen offenbar Verschiebungen der Hormonmengen oder Veränderungen des Verhältnisses der Hormone zueinander, also ein kompliziertes quantitative Zusammenspiel der gonadotropen und ovariellen Hormone zugrunde liegt (BUCHHOLZ, 1957).

BUCHHOLZ (1956) hat die Tagesausscheidung der Gonadotropine im Zyklus eingehend untersucht. Dabei fand er mit einer für ICSH spezifischen Methode, daß dieses Gonadotropin in der Mitte des mensuellen Zyklus einen statistisch gesicherten Ausscheidungsgipfel aufweist. Diese Beobachtung wurde

auch von anderen Autoren bestätigt (McARTHUR et al., 1958; FUKUSHIMA et al., 1964; ROSENBERG & KELLER, 1965; LEONE et al., 1965), so daß die Ausscheidungskurve der ICSH-Aktivität während des Zyklus heute als gesichert gelten kann. Für die Ausscheidung der Gesamtgonadotropine, bestimmt mit dem Maus-Uterus-Test nach LEVINE & TYNDAL (1937), fand BUCHHOLZ einen Kurvenverlauf, der in keiner Phase des Zyklus von dem der ICSH-Aktivität statistisch gesichert abweicht. Das Zusammenfallen der Ausscheidungskurven wird u.a. dahingehend gedeutet, daß der Maus-Uterus-Test weitgehend ICSH-abhängig ist und damit mehr oder weniger einer ICSH-Bestimmung gleichkommt (BUCHHOLZ, 1956). Eine Aussage über die FSH-Ausscheidung wird aus der Gesamtgonadotropinkurve nicht erhalten. Nach neuesten Untersuchungen von DONINI (1966) hat hochgereinigtes, von ICSH-Aktivitäten vollständig befreites FSH offenbar keinerlei Aktivität im Maus-Uterus-Test.

In neuerer Zeit ist über Untersuchungen berichtet worden, die mit spezifischen Methoden die FSH-Ausscheidung während des Zyklus erfassen. FUKUSHIMA und Mitarb. (1964) fanden, daß die FSH-Ausscheidung während der Menstruation die höchsten, und in der Zyklusmitte die niedrigsten Werte aufweist. Zu demselben Ergebnis kommen LEONE et al. (1965). Im Gegensatz dazu fanden ROSENBERG & KELLER (1965) sowie SCHMIDT-ELMENDORFF (1966) einen gleichsinnigen Verlauf der Ausscheidungskurven von ICSH und FSH, also ein Maximum auch der FSH-Ausscheidung in der Zyklusmitte und niedrige Werte in den übrigen Zyklusphasen. Diese widersprüchlichen Ergebnisse, die möglicherweise methodologisch erklärt werden können, lassen weitere Untersuchungen über die genauen Ausscheidungsverhältnisse des FSH im Zyklus als notwendig erscheinen.

Über die Ausscheidung der Oestrogene im mensuellen Zyklus ist man heute gut unterrichtet (PEDERSEN-BJERGAARD & PEDERSEN-BJERGAARD, 1948; BROWN, 1955). Zwei Gipfel sind in

Blut und Harn nachzuweisen: Einer fällt in die Zeit der Ovulation, der andere liegt in der zweiten Zyklushälfte kurz nach der höchsten Funktion des Corpus luteum (OBER, 1957).

Das Progesteron tritt in großen Mengen erst in der zweiten Hälfte des Zyklus auf und wird im wesentlichen von den Granulosaluteinzellen des Corpus luteum gebildet (OBER, 1957).

Seit dem Nachweis eines präovulatorischen Gipfels der Pregnanoliolausscheidung im Harn (DIBBELT & BUCHHOLZ, 1953), die als Ausdruck des Progesteronstoffwechsels im Organismus gewertet werden kann (KAUFMANN, WESTPHAL & ZANDER, 1951; ZANDER, 1951), ebenso dem Nachweis von HOOKER-FORBES-Aktivität im Serum vor dem Eisprung (BUCHHOLZ, DIBBELT & SCHILD, 1954) und schließlich seit dem direkten Nachweis von Progesteron in der Follikelflüssigkeit (ZANDER, 1954), gilt es als gesichert, daß Progesteron vom Ovar schon vor der Ovulation gebildet wird. Als Bildungsort gelten die Thecazellen (OBER, 1957). An Hand dieser Ergebnisse wird die Möglichkeit diskutiert, daß Progesteron über die Beeinflussung der Hypophyse eine Rolle bei der Auslösung der Ovulation spielt (BUCHHOLZ, DIBBELT & SCHILD, 1954; BUCHHOLZ, NOCKE & NOCKE, 1964). Tierversuche - Auslösung der Ovulation durch Progesteron, volle Brunsterscheinungen im Experiment durch den Synergismus von Progesteron und Östrogen-weisen in diese Richtung. EVERETT (1948) fand in der Progesteronwirkung auf die Ovulation bei der Ratte eine Abhängigkeit von der Höhe des Östrogenspiegels: Bei einem hohen Östrogenspiegel begünstigt das Progesteron die Ovulation; bei einem niedrigen Östrogenspiegel wird die Ovulation durch Progesteron verschoben.

Durch die Gabe von Progesteron am 5. Zyklustag und am 4. Tag vor der mutmaßlichen Ovulation versuchten BUCHHOLZ, NOCKE & NOCKE (1964) die vermutete Bedeutung dieses Gestagens für die Auslösung der Ovulation auch bei der Frau experimentell

zu prüfen. In den beiden Untersuchungsgruppen kam es nach der Progesterongabe zu einer reaktiven Erhöhung der Gonadotropinausscheidung (M.U.-Test), sehr wahrscheinlich von ICSH. Den Grund dafür, daß der durch Progesteron induzierte hypophysäre Impuls keine Ovulation auslöste, sehen die Autoren in einem zur Zeit der Progesterongabe noch zu geringen Reifezustand der Follikel.

Die gesicherten Ausscheidungskurven von Keimdrüsenhormonen und ICSH während des Zyklus lassen unter Berücksichtigung der von FUKUSHIMA et al. (1964) und von LEONE et al. (1965) gefundenen FSH-Kurve für die bei der Auslösung der Ovulation wirksamen endokrinen Vorgänge das folgende hypothetische Konzept zu (NOCKE, 1965):

1. Der in der 4.Zykluswoche einsetzende steile Abfall der ovariellen Östrogen- und Gestagenproduktion verursacht die Entzugsblutung und die Abstoßung des Endometriums und bewirkt gleichzeitig schon vor der Menstruation eine Entthemung der Hypophyse.

2. Als Folge davon steigt schon vor der Menstruation die FSH-Sekretion des HVL an und erreicht ihr Maximum zur Zeit der Menstruation. Mit dem Maximum der FSH-Sekretion setzt das Wachstum von Follikeln ein, deren ansteigende Östrogenproduktion die hypophysäre FSH-Sekretion zunehmend hemmt. Das Maximum der Östrogenproduktion in der Zyklusmitte fällt mit einem Minimum der FSH-Sekretion zusammen.

3. Zu diesem Zeitpunkt des Zyklus erfolgt der Eisprung. Da dieser offenbar mit einem scharfen Maximum der ICSH-Sekretion der Hypophyse zusammenfällt, ist ein Kausalzusammenhang zwischen diesen beiden Ereignissen wahrscheinlich. Als Ursache der reaktiven ICSH-Ausscheidung während der Zyklusmitte werden diskutiert:

- a. die schon vor der Ovulation einsetzende Progesteronproduktion,
- b. die maximale Östrogenausscheidung und
- c. ein bestimmtes Konzentrationsverhältnis von Östrogenen und Progesteron.

Dieses Konzept berücksichtigt jedoch nur den Mechanismus der humoralen Selbstregulation zwischen hypophysären Gonadotropinen und ovariellen Hormonen.

III. Die Beeinflussung der Gonadotropinausscheidung durch Keimdrüsenhormone und ihnen verwandte synthetische Steroide

Keimdrüsenhormone und vor allem ihnen chemisch verwandte synthetische Steroide, die sich wegen ihrer abgeänderten Wirkungen pharmakologisch gezielter anwenden lassen (KAUFMANN, 1958), werden heute in großem Maße therapeutisch eingesetzt. Als Indikationsgebiete, die wohl hierbei den weitesten Raum einnehmen, sollen nur die Fertilitätssteigerung durch Ausnutzung des Reboundeffektes, die Behandlung von Dysmenorrhoe und Endometriose und die Empfängnisverhütung genannt werden (HALLER, 1965).

Wegen dieser großen klinischen Bedeutung und auch aus Interesse an den physiologischen Vorgängen haben sich zahlreiche Untersucher mit der Wirkung der obengenannten Stoffe auf die gonadotrope Partialfunktion des HVL befaßt. Aus der Tatsache aber, daß die Kenntnisse auf diesem Gebiet im wesentlichen auf Ergebnissen aus tierexperimentellen Untersuchungen beruhen und daher nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar sind (BUCHHOLZ, 1959), erhellt die Notwendigkeit von Untersuchungen am Menschen selbst.

Die hierbei gewonnenen Ergebnisse der einzelnen Untersucher, die nur kurz erwähnt werden sollen, sind sehr unterschiedlich.

So berichten ALBERT und SMITH (1961), daß sie bei Gabe von Progesteron keinen Einfluß auf die Gonadotropinausscheidung bei Kastratinnen und Frauen in der Postmenopause beobachteten

konnten. BROWN, FOTHERBY und LORAINE (1960) (zit. nach LORAINE; 1964) fanden unter Gabe von Norethisteron und Norethisteronazetat bei Frauen mit normalem Zyklus eine Hemmung der Ovarialfunktion ohne gleichzeitige Senkung der Harngonadotropine. LORAINE (1964) ist aufgrund seiner Versuche allgemein der Ansicht, daß Gestagene bei Frauen in der Postmenopause schwache Hemmer der Hypophysenfunktion seien und bei Frauen während der normalen Geschlechtsfunktion die Ovulation hemmen, ohne die Gonadotropinausscheidung im Harn zu beeinflussen. Er folgert daraus bei der Ovulationshemmung eine direkte Wirkung der Substanzen auf das Ovar.

BUCHHOLZ und NOCKE (1965) weisen dagegen darauf hin, daß bei einer direkten Wirkung auf das Ovar die Anwendung von Ovulationshemmern wesentlich problematischer ist als bei einer alleinigen Hemmung der Hypophysentätigkeit. In mehreren größeren Versuchsreihen wurde dieser Fragestellung unter sorgfältiger statistischer Prüfung der Ergebnisse nachgegangen (BUCHHOLZ, 1959, 1961; BUCHHOLZ, NOCKE & NOCKE, 1964; BUCHHOLZ & NOCKE, 1965).

Die Resultate dieser Untersuchungen lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß bei Frauen in der Postmenopause getestete Substanzen eine deutliche, allerdings unterschiedliche Hemmwirkung auf die Hypophyse entfalten. Bei geschlechtsreifen Frauen fand sich als Ausdruck der Hypophysenbeeinflussung eine Auslöschung des Gonadotropingipfels (ICSH) in der Zyklusmitte. Die Autoren schließen daraus, daß die Ovulationshemmer ihre wesentliche Wirkung über die Hypophyse entfalten, eine direkte Wirkung der Substanzen auf das Ovar aber nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann (BUCHHOLZ & NOCKE, 1965).

In der letzten Zeit ist ein neues Steroidpräparat, das 6 α -methyl-17 α -hydroxy-Progesteronazetat (6-MAP), ein Abkömmling des Progesterons, von verschiedenen Autoren und Arbeitsgruppen getestet worden.

Im Tierversuch erwies sich 6 MAP als ein Präparat von hoher gestagener Aktivität ohne östrogene und androgene Nebeneffekte, das den bisher gebräuchlichen Gestagenen sowohl subkutan als auch oral appliziert weit überlegen ist (BABCOCK et al., 1958; MIYAKE & PINCUS, 1958; SALA et al., 1958; STUCKI, 1958; SALA et al., 1960; DESAULLES & KRÄHENBÜHL, 1962; SUCHOWSKI et al., 1964; SUCHOWSKI et al., 1965). Die im Tierversuch starke konzeptionsverhindernde bzw. ovulationshemmende Wirkung scheint auf einem vorwiegend zentralen Angriff des Gestagens zu beruhen (GLENN et al., 1959; LOGOTHETOPOULOS et al., 1961; DESAULLES & KRÄHENBÜHL, 1962; GOISIS, 1964; SUCHOWSKI et al., 1965).

Die Ergebnisse aus Untersuchungen bei Frauen zeigen nicht ein so einheitliches Bild. Zwar konnte das Fehlen von östrogenen (GREENBLATT & BARFIELD, 1959; KUPPERMAN & EPSTEIN, 1962) und androgenen (GOISIS, 1962; TRONCONI, 1962) Nebeneffekten auch beim Menschen bestätigt werden, aber die Auffassungen der einzelnen Autoren über die Wirksamkeit des Präparates als Antikonzipienz gehen weit auseinander:

In mehreren größeren Versuchsreihen zeigte 6-MAP sowohl alleine (EICHNER, 1963, 1963a; WIED & DAVIS, 1963; GOLD, 1963; EICHNER, 1964), als auch in Kombination mit Äthinyl-östradiol (DINGLE, 1963; GOULD, 1963; LIVINGSTON JR, 1963; MOGHISSI, 1963) eine starke ovulationshemmende Wirkung, wobei allerdings zu bedenken ist, daß Äthinylöstradiol in den für Kombinationspräparate üblichen Dosen alleine schon zu einer Unterdrückung des Eisprunges führt (BUCHHOLZ & NOCKE, 1965). EICHNER (1963) fand eine deutliche Ovulationshemmung durch 6 MAP alleine bei einer täglichen Dosierung von 5 - 10 mg.

Demgegenüber konnten FUCHS et al. (1964) bei drei geschlechtsreifen Frauen unter der Gabe von 5 mg 6-MAP/die keine ovulationshemmende Wirkung beobachten. Diese Autoren, sowie GREENBLATT und BARFIELD (1959) halten 6-MAP als Mittel zur Konzeptionsverhütung für ungeeignet.

Nach Angaben über die zentrale Wirkung des 6-MAP scheint die Beeinflussung der Gonadotropinausscheidung beim Menschen von der Art der Applikation abzuhängen: Nach Gabe von 6-MAP als Depotpräparat tritt eine deutliche Depression der Gonadotropinausscheidung ein (KUPPERMAN & EPSTEIN, 1962; LARON, RUMNEY, RAT & NAJI, 1963). Dagegen konnte unter oraler Gabe des Präparates eine Wirkung auf die Gonadotropinausscheidung nicht festgestellt werden (GREENBLATT & BARFIELD, 1959; ALBERT & SMITH, 1961; KUPPERMAN & EPPSTEIN, 1962; LARON, 1963; FUCHS et al., 1964).

LUNENFELD (1964) fand bei einer amenorrhoeischen Frau mit im Urin nicht nachweisbaren Gonadotropinen bei Zufuhr exogener Gonadotropine unter der Gabe von a.) 5 mg 6-MAP oral und b.) von 0,05 mg Äthinylöstradiol keine Beeinflussung der auf exogene Gonadotropine gut ansprechenden Ovarien.

Erstaunlicherweise fand LUNENFELD bei einer anderen Patientin mit hypogonadotropen Hypogonadismus eine Beeinflussung der durch exogene Gonadotropine stimulierten Ovarien, wenn er 6-MAP und Äthinylöstradiol kombiniert verabreichte.

Die hier angeführten Versuchsergebnisse mehrerer Autoren demonstrieren deutlich, daß man von der definitiven Kenntnis der Wirkmechanismen der Ovulationshemmer noch weit entfernt ist. Eine Klärung der Frage, ob die betreffenden Substanzen ihre Wirkung über die Hypophyse entfalten oder direkt das Ovar beeinflussen oder ob beide Möglichkeiten je nach Präparat kombiniert existieren und welche Bedeutung der Dosierung dabei zukommt, ist nur durch eine Vielzahl von Experimenten zu erwarten. Die vorliegende Arbeit versucht dazu einen Beitrag zu leisten:

Es soll unter Verwendung einer großen Zahl von Testtieren und unter Hinzuziehung einer statistischen Methode zur Prüfung der Ergebnisse die Beeinflussung von 6-MAP bei oraler Applikation in verschiedenen Dosen auf die Gonadotropinausscheidung im Harn bei Frauen in der Postmenopause, einer

Kastratin und einer Frau mit Gonadendysgenese untersucht werden. Dabei soll gleichzeitig die Ausscheidung von 17-Ketosteroiden, 17-Hydroxycorticosteroiden, Pregnandiol, Pregnantriol, von Oestron, Oestradiol und Oestriol im Harn bestimmt werden, um dadurch weitere - mittelbare - Indikatoren einer hypophysären Beeinflussung durch 6-MAP zu erhalten.

B. Experimenteller Teil

I. Untersuchungsmaterial und Methodik

1. Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung der Beeinflußbarkeit der Hypophysenfunktion durch 6-MAP (6 α -methyl-17 α -hydroxy-Progesteronacetat, Abb. 5) hatten sich vier Schwestern der Frauenklinik zur Verfügung gestellt. Die Versuchspersonen befanden sich zur Zeit der Untersuchungen 3 bis 17 Jahre in der Postmenopause, so daß ein Einfluß der Ovarien auf die Hypophysentätigkeit nicht anzunehmen war. Ebenfalls zur Untersuchung herangezogen wurden zwei Patientinnen, bei denen infolge niedriger ovarieller Steroid- und hoher Gonadotropinausscheidung im Urin gynäkologisch-endokrinologische Verhältnisse vorliegen, die mit denen bei Frauen in der Postmenopause vergleichbar sind:

- die 41-jährige Patientin E.M., die sich 1946 einer rechts- und 1953 einer linksseitigen Adnexentfernung hatte unterziehen müssen;

- die 28-jährige Patientin A.H., bei der aufgrund des Körperbaues, der gynäkologischen Anamnese und des gynokologischen Palpationsbefundes die Verdachtsdiagnose Gonadendysgenesie gestellt wurde. Die Chromosomenuntersuchung ¹⁾ ergab ein XO/XX_a-Mosaik mit einem wahrscheinlich abnormen und übergroßen X-Chromosom (X_a).

Die Frauen wurden angewiesen, über 15 Tage ihren 24-Stunden-Urin vollständig zu sammeln. Die Sammelzeit eines 24-Stunden-Urins erstreckte sich von 8 Uhr morgens ²⁾ des folgenden Tages, so daß der erstgelassene Morgenharn (Nachturin) zu dem vorangehenden Tag zählte. Die genaue Erfassung des 24-Stdn-Urins wurde dadurch sichergestellt, daß vor dem Beginn der Sammlung die Blase auch ohne Harndrang entleert, der Urin verworfen und vor dem Beginn einer neuen Tages -

¹⁾Dr. Dollmann, Zytogenetisches Laboratorium der Universitäts-Frauenklinik, Marburg ²⁾ bis acht Uhr morgens

sammlung die Blase ebenfalls entleert und der dabei gewonnene Harn zu der Sammlung des Vortages hinzugefügt wurde.

Zur Bestimmung des Ausgangswertes der Harngonadotropinausscheidung wurden an den ersten fünf Tagen der insgesamt 15-tägigen Sammelzeit die Urine ohne Gabe des zu testenden Präparates gesammelt. Am 6. Tag setzte die orale Gabe von 6-MAP ein, wobei

zwei Frauen	--	10 mg/ die
zwei Frauen	--	15 mg /die
zwei Frauen	--	50 mg/ die per os

erhielten. Unter der Medikation wurde die Sammlung der 24-Stdn-Urine bis zum 15. Tag fortgesetzt. Die in Plastikflaschen gesammelten Urine wurden bis zur Extraktion der Gonadotropine bei -20°C eingefroren, um Aktivitätsverluste zwischen Sammlung und Aufbereitung der Urine zu vermeiden. Vor der Extraktion wurde jedem 24-Stdn-Urin eine genau bemessene Menge entnommen und der Steroidbestimmung zugeführt.

Die fünf 24-Stdn-Urine der einzelnen Schwestern ohne Medikation wurden vereinigt, so daß als Ausgangswerte der Gonadotropinausscheidung der einzelnen Schwestern Durchschnittswerte aus fünf Tagen erhalten wurden. Bei den 24-Stdn-Urinen unter der Medikation wurden jeweils zwei aufeinanderfolgende 24-Stdn-Sammlungen miteinander vereinigt.

Zur Sammlung der 24-Stdn-Urine sind noch einige prinzipielle Bemerkungen notwendig. Es ist selbstverständlich, daß die Voraussetzung einer genauen Gonadotropinbestimmung die exakte Urinsammlung ist. Dabei ist man natürlich auf den guten Willen und die Zuverlässigkeit der Frauen angewiesen. Auf Grund dieses Unsicherheitsfaktors sind Tests wünschenswert, mit deren Hilfe die Vollständigkeit einer Urinsammlung überprüft werden kann. In einigen Laboratorien wird als Kriterium für die Vollständigkeit eines 24-Stdn-Urins die Kreatininausscheidung herangezogen. Sie ist allerdings nur für den Nachweis grober Sammelfehler geeignet (BREUER & NOCKE, 1967).

Wegen seiner Einfachheit zogen wir das von MEDYESI und KATONA (1961) angegebene Verfahren zur Kontrolle der Vollständigkeit der 24-Stdn-Urine heran. Hierbei sind nur spezifisches Gewicht und Volumen der 24-Stdn-Urine zu registrieren. Nach den Erfahrungen dieser Autoren ist nur dann ein Urin zur Untersuchung geeignet, wenn sein Volumen und spezifisches Gewicht in die Formel - (spez. Gew. minus 1010) mal (Volumen pro 24 Stdn/100) - eingesetzt eine Zahl über 80 ergeben. Urine mit Werten unter 80 sind zu verwerfen.

Bei der Überprüfung unserer Urine mit dieser Formel zeigte sich, daß nur 46,3 % der gesammelten 24-Stdn-Urine in den durch die Formel tolerierten Bereich fielen, d.h. 53,7 % der Werte lagen unter 80. Betrachtet man den Prozentsatz der 24-Stdn-Urine der einzelnen Schwestern, der die Bedingungen der Formel erfüllt (a: 11,4 %, b: 83,4 %, c: 47,7 %, d: 17,6 %), so wird die Vermutung nahegelegt, daß die große Diskrepanz zwischen den Forderungen der Formel und den Ergebnissen aus den Urinen eher auf der individuellen Nierenfunktion, die z.B. durch individuelle alimentäre Gewohnheiten beeinflusst wird, als auf Sammelfehlern beruht. Uns erscheint daher der Schluß von der Diskrepanz auf Sammelfehler als nicht zwingend.

An Hand unseres Urinkollektivs prüften wir selbst die Korrelation zwischen täglichem Urinvolumen und spezifischem Gewicht. Als Ausdruck der Korrelation kann das Bestimmtheitsmaß B berechnet werden, das Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann. Hat B den Wert 1, so sind die beiden Variablen (in unserem Fall Volumen und spez. Gewicht) streng voneinander abhängig. Bei B = 0 besteht keine Korrelation. Unser geringes Bestimmtheitsmaß $B = 0,63^{+}$ bestätigt einerseits die Erfahrungstatsache, daß Urine bei steigender 24-Stdn-Ausscheidung in der Regel eine Abnahme der Konzentration aufweisen, zeigt aber andererseits auch, daß z.B.

⁺) das in ähnlicher Größenordnung von BORTH (1965) bei einer Überprüfung von Urinen aus dem Hormonlaboratorium der Universitäts-Frauenklinik Genf gefunden wurde . . .

bei konstanten Volumen das spezifische Gewicht des Urins noch von anderen Faktoren bestimmt wird, die durch eine einfache Methode, wie sie zur routinemäßigen Überprüfung der Urine gefordert werden muß, nicht erfaßt werden können.

Wir halten daher mit BORTH (1965) und RICHERICH (1965) Volumen und spezifisches Gewicht als Kriterien für die Vollständigkeit einer Urinsammlung für ungeeignet.

2. Steroidbestimmungen

Bestimmung von Oestron, Oestradiol-17 β und Oestriol nach BROWN, BULBROOK & GREENWOOD

Bei der Bestimmung der klassischen Oestrogene nach der Methode von BROWN, BULBROOK & GREENWOOD (1957) werden die im Urin ausgeschiedenen, wasserlöslichen Konjugate der Oestrogene zunächst durch eine heiße Salzsäure-Hydrolyse gespalten, dadurch in lipoidlösliche Form umgewandelt und anschließend mit Äther extrahiert. Der Ätherextrakt wird durch Verteilung mit verschiedenen Lösungsmitteln gereinigt und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Die phenolische Fraktion, welche die Oestrogene enthält, wird durch Verteilung zwischen organischen Lösungsmitteln und wässrigem Alkali von der neutralen Steroidfraktion abgetrennt. Durch Erhitzen am Rückfluß mit wässrigem Alkali werden eine Reihe von unspezifischen Verunreinigungen zerstört und durch verschiedene Verteilungen zwischen organischen und wässrigen Lösungsmitteln, bei denen die Abhängigkeit der Verteilungskoeffizienten der phenolischen Steroide von Änderungen des pH-Wertes und der Ionenstärke ausgenutzt wird, entfernt. Anschließend werden die Oestrogene durch Methylierung der phenolischen Hydroxygruppe am C-Atom 3 in ihre 3-Monomethyläther umgewandelt, an Aluminiumoxydsäulen chromatographisch getrennt und mit Hilfe der KOBER-Reaktion (NOCKE, 1961) kolorimetrisch bestimmt.

Bestimmung von Total-17-Ketosteroiden nach NORYMBERSKI, STUBBS & WEST

Für die Bestimmung der Total-17-Ketosteroide wurde die Methode von NORYMBERSKI, STUBBS & WEST (1953) benutzt. Bei dieser Methode werden zunächst die wasserlöslichen Steroidkonjugate durch Hydrolyse in heißer Salzsäure gespalten und die freigesetzten, wasserunlöslichen Steroide mit 1,2-Dichloräthan extrahiert. Die Dichloräthan-Extrakte werden nach Entfernung der wässrigen Phase mit Wasser und wässriger NaOH gewaschen und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Steroidgehalt der Trockenrückstände wird mit Hilfe der ZILMERMANN-Reaktion in der Ausführung von CALLOW, CALLOW & EMMENS (1938) colorimetrisch bestimmt.

Bestimmung von Total-17-Hydroxycorticosteroiden nach APPLEBY, GIBSON, NORYMBERSKI & STUBBS

Die Methode unterscheidet sich von der oben beschriebenen Methode zur Bestimmung der Total-17-Ketosteroide lediglich durch zwei zusätzliche Arbeitsgänge: die zu bestimmenden Steroide werden zunächst mit Natriumborhydrid behandelt, wodurch die C_{17} -Ketogruppe der in der Urinprobe vorhandenen 17-Ketosteroide zu einer 17 β -Hydroxygruppe reduziert wird. Durch eine anschließende Behandlung mit Natriumwismutat wird die C_{21} -Seitenkette an Ring D der Steroide oxydativ abgespalten. Dadurch entstehen aus den ursprünglich vorhandenen 17-hydroxylierten C_{21} -Steroiden 17-Ketosteroide, die nach dem oben beschriebenen Verfahren quantitativ bestimmt werden können.

Bestimmung von Pregnan-3 α , 20 α -diol und Pregnan 3 α ,17 α ,20 α -triol nach NOCKE & NOCKE (unveröffentlichte Methode)

Zur Bestimmung von Pregnandiol und Pregnantriol werden die im Urin ausgeschiedenen Steroidkonjugate zunächst durch eine enzymatische Hydrolyse mit β -Glukuronidase gespalten.

Anschließend werden die freien Steroide mit Hilfe von Benzol extrahiert. Nach Waschung der Benzolextrakte mit wässriger NaOH und Wasser erfolgt die adsorptionschromatographische Trennung von Pregnandiol und Pregnantriol an einer Aluminiumoxydsäule. Als Elutionsmittel werden ansteigende Konzentrationen von Äthanol in Benzol benutzt. In den Trockenrückständen der Säuleneluat wird Pregnantriol als Schwefelsäurechromogen colorimetrisch bestimmt. Die Pregnandiolfraktion wird anschließend zur oxydativen Zerstörung von Verunreinigungen mit einer alkalischen Lösung von Kaliumpermanganat geschüttelt, mit Wasser gewaschen und erneut über einer Aluminiumoxydsäule chromatographiert. In den Trockenrückständen der Säuleneluat wird Pregnandiol als freie Verbindung mit Schwefelsäure colorimetriert. Die Extinktion für Pregnandiol und Pregnantriol werden mit Hilfe der Formel von ALLEN (1950) korrigiert.

3. Extraktionsverfahren

Der Gehalt an Gonadotropinen im Harn bei Frauen in der Postmenopause ist zu gering für den direkten Nachweis, wie er z.B. für HCG in der Schwangerschaft durch Injektion des Harnes beim Versuchstier möglich ist. Daher ist eine Anreicherung der Gonadotropine durch ihre Extraktion aus dem Urin unumgänglich. Mehrere Methoden sind hierfür im Laufe der Zeit angegeben worden, deren älteste die von ASCHHEIM u. ZONDEK (1927) verwandte Alkohol-Äther-Fällung ist.

Die heute gebräuchlichsten Extraktionsverfahren sind die von LORAINÉ & BROWN (1956) und von ALBERT (1956) beschriebenen Koalin-Aceton-Methoden. Da mit der Methode von ALBERT gegenüber der von LORAINÉ und BROWN ein etwa 3-fach stärker konzentrierter, weniger toxischer Extrakt mit einem höheren Gehalt an gonadotroper Aktivität/Liter Urin

bei geringerem Zeitaufwand gewonnen wird (HEINRICHS & EULEFELD, 1960), entschlossen wir uns für diese Methode mit der Modifizierung nach HEINRICHS und EULEFELD (1960):

Die Urine werden in Portionen von je 1000 ml aufgearbeitet. Urinreste unter 500 ml werden mit aqua dest. auf 500 ml aufgefüllt und mit entsprechend halbierten Reagentienmengen versetzt. Urinreste zwischen 500 und 1000 ml werden mit aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt. Die Urine werden mit Eisessig auf pH 4 eingestellt und mit 20 g trockenen Koalins (MERCK, DAB 6)/Liter Urin auf dem Magnetprüher verrührt. Die Koalin-Urin-Suspension wird in einem Druck-Filtrationsgerät (Typ MD 140-30, Membranfiltergesellschaft Göttingen) unter 5 atü Druck durch ein vorher auf den Boden der Druckkammer gelegtes aschfreies Filter (Schleicher u. Schüll Nr. 1557) gepreßt. Der ablaufende Urin wird verworfen. Der Koalinkuchen auf dem Boden der Druckkammer wird dann durch Zugabe von angesäuertem Leitungswasser (1 Liter Wasser/ 1 Liter Originalurin, angesäuert mit Eisessig auf pH 4), das ebenfalls mit 5 atü Druck durch das Filter gepreßt wird, gewaschen. Das Waschwasser wird ebenfalls verworfen. Anschließend erfolgt die Elution der Gonadotropine aus dem Koalin durch 100 ml einer Ammoniaklösung (4 Vol. aqu. dest + 1 Vol. Ammoniak, p.a., Riedel de Haen, Mol. Gew. 17,03; ca. 25 % NH_3 , $D_{20} = 0,907$, $D_{15} = 0,910$. Erlaubter pH-Bereich der Ammoniaklösung: pH 11,9-12,1), die mit 5 atü durch das Koalin gepreßt wird. Das in einem Kolben aufgefangene Eluat wird dann nochmals in die Druckkammer gegeben und ein zweites Mal mit etwa 15 atü durch das Koalin gefiltert. Zur Vervollständigung der Elution folgen noch 50 ml aqu. dest, die ebenfalls unter 15 atü hindurchgepreßt und mit dem ersten Eluat vereinigt werden. Dieses Eluat (ungefähr 150 ml) wird mit Eisessig auf pH 5,5 eingestellt und mit 300 ml Aceton zur Fällung der Gonadotropine versetzt. Nach gutem Durchrühren wird die Lösung eine halbe Stunde im Eisschrank stehen gelassen und anschließend der gebildete Niederschlag

abzentrifugiert. Der Acetonüberstand wird vorsichtig dekantiert, das Zentrifugat mit 20 ml abs. Aethanol aufgerührt, zentrifugiert, dekantiert, mit 20 ml Äther aufgerührt, wiederum zentrifugiert, dekantiert und anschließend im Exsikkator über CaCl_2 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Nach Feststellung des konstanten Gewichtes werden die Extrakte in luftdicht abschließende Fläschchen gefüllt und im Kühlschrank aufbewahrt.

Die Einstellung der pH-Werte geschieht mit einem Knick-pH-Meter. Das Gerät wird jeweils mit Pufferlösungen von pH 4,0 pH 11,0 und pH 5,0 für die entsprechenden pH-Bereiche geeicht. Wir verwendeten eine 1-Stab-Jenaer-Glaselektrode mit einem Meßbereich von pH 2,0 bis pH 14. Die genaue Einstellung der geforderten pH-Werte in den einzelnen Phasen des Extraktionsverfahrens ist unbedingt notwendig, da Abweichungen vom pH-Wert Verluste an gonadotroper Aktivität bedingen (BUCHHOLZ, 1956; HEINRICHS & EULEFELD, 1960).

4. Biologische Bestimmungsmethode

Die noch nicht hinreichend gelungene Trennung der Harn-gonadotropine in reine FSH- und ICSH-Aktivitäten und der dadurch bedingte Mangel an reinem Antigen lassen eine exakte immunologische Methode zur quantitativen Bestimmung der Harn-Gonadotropine noch nicht zu (LÜNENFELD, 1964a), von der sicherlich eine größere Präzision und auch Zeitersparnis gegenüber dem Tierversuch zu erwarten wäre. Da ebenso geeignete chemische Verfahren noch nicht zur Verfügung stehen, sind zuverlässige quantitative Gonadotropinbestimmungen bisher nur mit biologischen Methoden möglich (BREUER & NOCKE, 1967).

Wir verwendeten zur Austestung der im Harn ausgeschiedenen gonadotropen Aktivitäten die von LEVIN und TYNDAL (1937) entwickelte Uterus-Gewichtsmethode bei der intakten, infant-

len weiblichen Maus. Diese Methode gilt als spezifisch für den Nachweis der sogen. "Gesamt-Gonadotropin-Aktivität" unter der Voraussetzung, daß die Extrakte, die auf ihre gonadotrope Aktivität untersucht werden sollen, keine östrogenen Substanzen enthalten (DICZFALUSY & HEINRICHS, 1956), und beruht auf der Erkenntnis, daß durch die Gabe von Gonadotropinextrakten das Ovar der infantilen Maus zur Produktion von Östrogenen angeregt wird, die sich in der Zunahme des Uterusgewichtes ausdrückt. Dabei verhält sich die Uterusgewichtszunahme in gewissen Grenzen gegenüber dem Logarithmus der dem Tier gegebenen Dosis proportional und ermöglicht somit einen Rückschluß auf die zugeführte gonadotrope Aktivität.

a. Anordnung der Tierversuche

Keine Messung ist identisch reproduzierbar. Schwankungen der Ergebnisse, die bei allen Messungen beobachtet werden, sind bei biologischen Tests in besonderem Maße gegeben aufgrund der natürlichen biologischen und versuchstechnischen Variabilität (BORTH, DICZFALUSY & HEINRICHS, 1957). Um die Fehlermöglichkeiten darüber hinaus möglichst auszuschalten und die Bedingungen für die statistische Auswertung zu erfüllen, wurde in Anlehnung an BORTH et al. (1957), DICZFALUSY und HEINRICHS (1956) und LINDER (1959) auf folgende Versuchsbedingungen geachtet:

1. Es wurden immer Mäuse aus einer Koloniezucht verwendet. Damit können die Schwankungen der einzelnen Tiere in ihrer Reaktion auf die Gonadotropine eingeengt werden. In einer derartigen Verminderung der biologischen Variabilität liegt eine Erhöhung der Präzision der Methode.
2. Aus demselben Grund wurde auf konstante und gleichartige Umweltbedingungen für alle Tiere geachtet: Temperatur, Lichtverhältnisse, Anzahl der Tiere in einem Käfig und Ernährung blieben stets gleich.

3. Die Zuteilung der Tiere zu den einzelnen Dosisgruppen erfolgte streng zufällig. Dadurch hatte jedes Tier die gleiche Chance in irgendeine Dosierung zu geraten, wodurch eine systematische Verfälschung der Resultate durch auch unabsichtlich einseitige Auswahl der Tiere vermieden wurde.

4. Es wurden nur infantile weibliche Mäuse mit einem Gewicht von 8-11 g und einem Alter von 21 Tagen $\pm$ 1 Tag verwendet.

Die von einer bestimmten Dosis in 3 ml Kochsalzlösung gelösten Extrakte wurden den Tieren subcutan gegeben, wobei an drei Tagen hintereinander jeweils zur gleichen Uhrzeit 1 ml injiziert wurde. Genau 72 Std. nach der ersten Injektion wurden die Tiere mit Äther getötet, die Uteri herausgenommen und von Bindegewebe freipräpariert.

Die Wägung der Uteri erfolgte sofort nach der Präparation, also in frischem Zustand und ohne Trocknen zwischen Fließpapier. Es wurde streng darauf geachtet, daß die intrauterine Flüssigkeit während der Präparation nicht verloren ging und voll miterfaßt wurde. In Vorversuchen hatte sich nämlich gezeigt, daß dadurch gegenüber der Wägung nach Trocknen der Uteri steilere Regressionsgeraden erzielt werden konnten, was sich in einer Erhöhung der Präzision und Empfindlichkeit der Methode auswirkt (BORTH, DICZFALUSY & HEINRICHS, 1957).

Die Auswertung der Uterusgewichte erfolgte auf der Basis der absoluten Organgewichte, da sich keine wesentliche Abhängigkeit der Uterusgewichte von den Tiergewichten feststellen läßt und sich deshalb eine Umrechnung auf die relativen Organgewichte pro 100 g Körpergewicht erübrigt (HEINRICHS & EULEFELD, 1960, BUCHHOLZ, 1956).

b. Mathematisch-statistische Auswertung

Der Zweck dieser biologischen Bestimmung ist die Messung der spezifischen biologischen Aktivität eines unbekannten Präparates. Voraussetzung dafür ist wie bei jeder Messung die Existenz einer Maßeinheit und eines genormten Vergleichsmaßes.

Früher wurde die erhaltene Wirkungsintensität der Gonadotropine in Tiereinheiten (Ratte, Maus) angegeben, wobei z.B. bei der Bestimmung der Aktivität der Gesamtgonadotropine 1 M U E (Maus-Uterus-Einheit) einer 100-150 %igen Zunahme des Uterusgewichtes bei infantilen Mäusen entsprach (BUCHHOLZ, 1956a). Die Problematik der Angabe der Meßergebnisse in Tiereinheiten liegt aber in der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Tiere. Die Tiereinheiten unterliegen nämlich nicht nur von Laboratorium zu Laboratorium, sondern sogar innerhalb desselben Laboratoriums sehr großen Schwankungen, so daß ein Vergleich von Bestimmungsergebnissen sehr erschwert oder ganz unmöglich ist (BUCHHOLZ, 1956a; BORTH, DICZFALUSY & HEINRICHS, 1957; APOSTOLAKIS & VOIGT, 1965).

Es ist daher naheliegend, Gonadotropinextrakte auf ihre Wirksamkeit gegen Stoffe auszutesten, die bei den Versuchstieren die gemessenen Kriterien auslösen (BUCHHOLZ, 1956a), in unserem Fall Östrogene, da für diese Hormone genau meßbare Größen vorliegen (Gewichtseinheiten). Somit bietet sich die Angabe von Gonadotropinaktivitäten in μg einer Östrogensubstanz geradezu an. Es hat sich aber leider herausgestellt, daß dabei oftmals für Testpräparat und Vergleichssubstanz Dosiskurven mit verschiedenen Regressionskoeffizienten erhalten werden (BUCHHOLZ, 1956a), was auf einen qualitativen Unterschied zwischen dem Steroidpräparat und dem durch die gonadotrope Stimulation in den Ovarien freigesetzten "Steroidkomplex" schließen läßt. Ein Vergleich ist somit nicht möglich.

Da es vorerst als brauchbare Arbeitshypothese anzusehen ist, alle gonadotropen Substanzen, die im Harn von nichtschwangeren Frauen, von Männern und Kindern vorhanden sind, als HMG-Äquivalente zu betrachten, erscheint es aus statistischen Gründen berechtigt, die von nichtschwangeren Menschen isolierten Gonadotropine gegen eine gereinigte HMG-Substanz zu testen (HEINRICHS & EULEFELD, 1960). Wir verwendeten als Vergleichspräparat einen von BUCHHOLZ aus Menopausenurin gewonnene Laborstandard (HMGa "DÜSSELDORF"), der gegen das unoffizielle internationale HMG-20A Standard-Präparat ausgetestet wurde. Die biologische Aktivität von 4,08 mg des Laborstandards entsprach im Maus-Uterus-Test der Aktivität von 1 mg HMG-20A-Äquivalent.

Biologische Gonadotropinbestimmungen beruhen nun im Prinzip auf dem Vergleich der unbekannten Aktivität eines Extraktes mit der bekannten Aktivität eines Standardpräparates, bzw. auf einem Vergleich der Wirkungskurven beider Präparate.

Diese Wirkungskurven, die die Abhängigkeit der Uterusgewichtszunahme von der verabfolgten Dosis darstellen, sind "S"-förmig, d.h. in einem niedrigen Dosisbereich steigt das Uterusgewicht nicht über das der unbehandelten Kontrolltiere an: Die Wirkungskurve verläuft nahezu waagrecht, da die Schwellendosis, von der ab eine Wirkung auf das Uterusgewicht erfolgt, noch nicht überschritten ist. Auf der anderen Seite läßt sich auch durch sehr hohe Dosen das Uterusgewicht nicht über einen Maximalwert hinaus steigern. Der Bereich zwischen Schwellendosis einerseits und unterer Dosis mit maximaler Wirkung ist der für die Auswertung alleine geeignete. In diesem Bereich ist der kurvenförmige Anstieg der Wirkungskurve Ausdruck der Abhängigkeit der Uterusgewichte von der Dosis.

Um den Vergleich zwischen unbekanntem und bekanntem Präparat und das statistische Verfahren rechnerisch zu vereinfachen, müssen die Wirkungskurven in Lineare umgewandelt werden. Dies gelingt im Koordinatensystem durch Auftragen der Dosis

im logarithmischen Maßstab, rechnerisch durch Transformation der Dosis in ihre Logarithmen.

Die Auswertung der Uterusgewichte erfolgt unter der Annahme, daß die mittlere Dosis des unbekannten Präparates der des Standardpräparates äquivalent ist. Daraus ergibt sich für das unbekannte Präparat eine vermutete Aktivität, die der des Standards entspricht. Die Annahme der Äquivalenz ist bestätigt, wenn sich die Wirkungskurven von Test- und Standardpräparat decken. Fallen die Kurven nicht zusammen, so ist der horizontale Abstand "M" der beiden Wirkungsgeraden Ausdruck des Aktivitätsunterschiedes der beiden Präparate. Der Aktivitätsquotient, bzw. die relative Wirkungsstärke "R" ergibt sich als Antilog M, d.h. als Quotient aus ermittelter und vermuteter Aktivität, und das gesuchte Bestimmungsergebnis ist demnach:

$$\text{ermittelte Aktivität} = R \times (\text{vermutete Aktivität})$$

Die biologische Aktivitätsmessung des unbekannten Präparates beruht also, kurz zusammengefaßt, auf der Ableitung paralleler Wirkungsgeraden und der Bestimmung ihres horizontalen Abstandes voneinander (Abb. 6).

Die Genauigkeit des erhaltenen Resultates wird in Form der sog. Vertrauensgrenzen angegeben. Die Vertrauensgrenzen werden aus den Beobachtungswerten errechnet, und zwar für eine bestimmte Wahrscheinlichkeitsstufe, die bei biologischen Bestimmungen üblicherweise gleich 5 % gewählt wird. Man wird damit der Erfahrungstatsache gerecht, daß die ermittelte Aktivität nicht mehr sein kann als eine mehr oder weniger gute Schätzung der wahren Aktivität (BORTH, DICZFALUSY & HEINRICHS, 1957). Diese liegt bei einem Irrtumsrisiko von 5 % innerhalb der angegebenen Vertrauensgrenzen.

Die Berechnung der Ergebnisse und ihrer Vertrauensgrenzen ist jedoch nur sinnvoll, wenn einige Voraussetzungen erfüllt sind, auf denen das Rechenverfahren beruht und die mit Hilfe der sog. Gültigkeitskriterien geprüft werden können.

1. Regression: Der Wirkungsmetameter muß mit steigender Dosis deutlich zu- oder abnehmen. Es muß also geprüft werden, ob der Regressionskoeffizient gesichert von Null verschieden ist.
2. Linearität: Die Abhängigkeit des Wirkungsmetameters vom Dosismetameter muß linear sein.
3. Parallelität: Die Bestimmung der Aktivität durch die Berechnung des Abstandes M der Wirkungsgeraden verliert ihren Sinn, wenn die beiden Regressionsgeraden (Wirkungskurven) nicht parallel verlaufen, was (a) die Bestimmung von M nicht zuließe und (b) zeigen würde, daß unbekanntes Präparat und Standardpräparat sich qualitativ voneinander unterscheiden. Die Prüfung der Parallelität beruht auf dem statistischen Vergleich der Regressionskoeffizienten beider Wirkungsgeraden.
4. Gleiche Wirkung von unbekanntem Präparat und Standardpräparat: Da die biologische Aktivitätsbestimmung auf der Annahme der Äquivalenz der mittleren Dosen beider Präparate beruht, muß durch orientierende Vorversuche sichergestellt werden, daß die durch die Dosen des unbekannten Präparates zugeführten Wirkstoffmengen denen des Standardpräparates möglichst nahekommen. Bei Erfüllung sämtlicher anderen Gültigkeitskriterien kann diese Forderung etwas vernachlässigt werden, was allerdings zu einer Verbreiterung der Vertrauensgrenzen führt.

Die Prüfung auf Erfüllung aller Gültigkeitskriterien kann nur erfolgen, wenn für die Bestimmung der einzelnen Wirkungsgeraden mindestens drei Dosen verwendet werden. Daher führten wir für alle Untersuchungen die sog. 3 + 3 - Punkte - Bestimmung durch (3 Dosen des unbekannten Präparates wurden mit 3 Dosen des Standardpräparates verglichen).

Die statistische Auswertung der bei der biologischen Bestimmung erhaltenen Wirkungen und die statistische Prüfung

der Gültigkeitskriterien beruhen bei korrekter und exakter mathematischer Durchführung auf dem Verfahren der sog. Streuungszerlegung (LINDER, 1959, 1960). Unter der Voraussetzung der symmetrischen Versuchsanordnung läßt sich die Streuungszerlegung durch das Verfahren der sog. orthogonalen Vergleiche (GADDUM, 1953) ersetzen, wodurch die Rechenarbeit bedeutend vereinfacht wird. Anstelle der bei der Streuungszerlegung benötigten Quadratsummen treten nun in einer bestimmten Weise aufgebaute einfache Summen und Differenzen der in den Dosisgruppen erhaltenen durchschnittlichen Wirkungen.

Die symmetrische Versuchsanordnung ist leicht zu erreichen, indem:

1. die Zahl der Tiere in allen Dosisgruppen gleich ist. Wir verwendeten immer fünf Tiere pro Dosis;
2. die Dosen beider Präparate in gleicher geometrischer Progression ansteigen, d.h. der Quotient J benachbarter Dosen konstant ist. Daraus folgt, daß die Dosislogarithmen jedes Präparates denselben konstanten Abstand haben.

Neben den Vertrauensgrenzen wurden noch der Regressionskoeffizient (g) für die Gültigkeit der Regression der von GADDUM (1933) eingeführte Präzisionsindex λ und dessen reziproker Wert L angegeben. Diese Werte ermöglichen eine kritische Beurteilung der Methode: L -Werte von 10 und darüber sind Ausdruck einer großen Präzision der entsprechenden Bestimmung. Liegen die L -Werte unter 2,5, so muß die Methode als unpräzise bezeichnet werden, und entsprechend gering ist die Aussagekraft ihrer Ergebnisse.

Dieses hier im Prinzip dargestellte, von GADDUM entwickelte und von BORTH, DICZFALUSY & HEINRICHS (1957) für die Gonadotropinbestimmung beschriebene Auswertungsverfahren verwendeten wir unter Hinzuziehung der von BORTH (1960) vorgeschlagenen Vereinfachung. Dabei erfolgt die Berech-

nung mehrerer Versuche gleichzeitig gegen einen einzigen Standardversuch anstelle der separaten Berechnung einzelner Versuche. Daraus resultiert ein mehr ökonomischer Verbrauch von Tieren und Standardpräparaten bei gleichzeitiger Zunahme der Präzision. Bei Verwendung der von BORTH (1960) angegebenen Vereinfachung erhalten die Parameter g, λ und L und der zusammengefaßten statistischen Berechnungen dieselben Werte.

II. Ergebnisse

Bei 4 der 6 Patientinnen (Pat. 1-4; 3-17 Jahre in der Postmenopause) wurde die Ausscheidung von HPG, 17-KS und 17-OHCS vor und unter der Behandlung mit 6-MAP bestimmt. Pat. 1 und 2 erhielten je 10 mg, Pat. 3 und 4 je 15 mg 6-MAP pro 24 Std_n per os. Die erhaltenen Werte geben Abb. 7 -10 und Tab. 1 - 4 wieder. Bei Pat. 5 (41 Jahre, beidseitige Adnexentfernung vor 13 bzw. 20 Jahren) und Pat. 6 (28 J., Gonadendysgenesie) wurden zusätzlich die Ausscheidung von Pregnan_diol (PD), Pregnan_triol (PT), Oestron (Oe_1), Oestradiol -17 β (Oe_2) und Oestriol (Oe_3) im Urin bestimmt. Bei Pat. 5 sind die Werte der Steroidbestimmungen vor und unter 6-MAP-Gabe Mittelwerte aus je 2-3 Einzelbestimmungen. Bei Pat. 6 wurde die 17 -OHCS-Ausscheidung unter der Behandlung nicht bestimmt. Beide Patientinnen erhielten je 50 mg 6-MAP pro 24 Std_n per os. Die erhaltenen Werte werden in Abb. 11 u. 12 und in Tab. 5-8 dargestellt.

Die Ergebnisse im einzelnen:

1. HPG-Ausscheidung

Bei den hier untersuchten Patientinnen wurden vor der Behandlung mit 6-MAP Ausscheidungswerte zwischen 43,3 und

256,3 HMG-E/24 h gefunden. Die mittlere Ausscheidung aller Patientinnen betrug 127,4 HMG-E/24 h. Die Vertrauensbereiche ($P=0,05$) der sechs Ausscheidungsergebnisse überdecken einen Bereich von 39 bis 290 HMG-E/24 Stdn. Der niedrigste Ausscheidungswert (43,3 HMG-E/24 h) wurde bei Pat. 6 (Gonadendysgenesie) gefunden, während der höchste Wert (256,3 HMG-E/24 h) bei Pat. 3 (3 Jahre in der Postmenopause) beobachtet wurde. Die HPG-Werte bei Pat. 1 - 4 (3-17 Jahre in der Postmenopause) betrugen 75,7 - 256,3 HMG-E/24 h und wiesen somit eine relativ weite Schwankungsbreite auf. BUCHHOLZ et al. (1963) fanden z.B. bei 18 Frauen in der Postmenopause eine mittlere HPG-Ausscheidung von 73,1 +/- 18,3 HMG-E/24 h. APOSTOLAKIS & LORAINÉ (1960) fanden bei Postmenopausefrauen Gonadotropingehalte im Urin zwischen 35 und 158 HMG-E/24 h.

Die HPG-Ausscheidung bei Pat. 5 (41 J., Zustand nach Ovari-ektomie beiderseits) betrug 117,8 HMG-E/24 h und lag damit innerhalb des bei Frauen in der Postmenopause gefundenen Ausscheidungsbereiches.

Bei Pat. 6 war die HPG-Ausscheidung von 43,3 HMG-E/24 h für einen Fall von Gonadendysgenesie relativ niedrig. NOCKE et al (1963) fanden bei 3 Pat. mit Gonadendysgenesie Ausscheidungswerte von 126 - 421 HMG-E/24 h.

Unter der Gabe von 10 mg 6 MAP/die (Pat. 1 und 2) zeigte sich bei Pat. 1 am 11. und 12. Behandlungstag ein signifikanter Abfall der Gonadotropinausscheidung. Bei Pat. 2 lagen unter 6-MAP-Gabe zwei Werte signifikant unter der Ausscheidung vor der Medikation, während sich bei drei Werten unter der Behandlung die Vertrauensgrenzen mit denen des Ausgangswertes überlagerten.

Bei einer Gabe von 10 mg 6-MAP pro 24 Stdn zeigte sich also kein eindeutiger Hemmeffekt auf die tägliche Gonadotropinausscheidung im Urin.

Pat. 3 und 4 erhielten je 15 mg 6 MAP/die. Bei Pat. 3 sind alle Werte unter 6-MAP-Gabe niedriger als der Ausgangswert, es besteht jedoch nur bei 2 von 5 Werten ein signifikanter Unterschied gegenüber der Ausscheidung vor der Behandlung. Bei Pat. 4 liegen 3 von 6 Werten signifikant unter dem Ausgangswert. 3 Werte liegen höher, jedoch besteht hier eine Überlappung der Vertrauensbereiche. Auch bei der Gabe von 15 mg 6-MAP/die ließ sich kein eindeutiger Hemmeffekt auf die Gonadotropinausscheidung im Urin nachweisen.

Pat. 5 und 6 erhielten je 50 mg 6-MAP/24 h. Bei Pat. 5 liegen 5 Werte über dem Ausgangswert; 1 Wert ist deutlich erniedrigt.

Bei Pat. 6 zeigt kein Wert eine Erniedrigung gegenüber dem Ausgangswert.

Unter der Gabe von 50 mg 6-MAP/die erfolgte ebenfalls keine Erniedrigung der HPG-Ausscheidung im Urin.

2. 17-Ketosteroide und 17-Hydroxycorticosteroide

Bei keiner der 6 Patientinnen lagen die ermittelten Ausscheidungswerte der Total-17 Ketosteroide und 17 Hydroxycorticosteroide vor und unter der Behandlung mit 6 MAP außerhalb der Vertrauensgrenzen ($P=0,05$) der zu erwartenden altersentsprechenden Normalausscheidung (vgl. BORTH et al., 1957). Bezogen auf die mittlere, altersentsprechende Normalausscheidung schwankten die Ausscheidungswerte der 17-KS vor der Behandlung zwischen einem 1,1-fachen und 1,9-fachen mittleren, altersentsprechenden Normalwert. Unter der Behandlung mit 6-MAP zeigt sich bei der 17-KS-Ausscheidung der Pat. 1, 2, 4 und 6 keine auffälligen Änderungen, d.h. die Ausscheidungswerte blieben innerhalb des oberen Vertrauensbereiches. Bei Pat. 3 zeigte sich unter der Gabe von 6 MAP mit dem niedrigsten und höchsten Ausscheidungswert (3,2 mg und 6,3 mg/24 h) eine Verlagerung der 17-KS-Aus-

scheidung vom unteren in den oberen Vertrauensbereich. Bei Pat. 5 sank die 17-KS-Ausscheidung unter 6-MAP-Gabe in den unteren Vertrauensbereich.

Bei der Ausscheidung der 17-OHCS zeigte sich ein ähnliches Verhalten. Hier schwankten die Ausscheidungswerte vor der Gabe von 6 MAP zwischen einem 0,81-fachen und 1,56-fachen mittleren, altersentsprechenden Normalwert (vgl. BORTH et al., 1957). Die 17-OHCS-Ausscheidung von Pat. 1 und 2 lag im unteren, die von Pat. 3, 4, 5 und 6 im oberen Vertrauensbereich. Unter der Gabe von 6-MAP zeigte sich bei den Pat. 1, 2 und 4 keine wesentlichen Änderungen der 17-OHCS-Ausscheidung, d.h. sie blieb bei Pat. 1 und 2 im unteren und bei Pat. 4 im oberen Vertrauensbereich. Die 17-OHCS-Ausscheidung von Pat. 6 wurde unter 6 MAP-Gabe nicht bestimmt. Bei Pat. 3 und 5 zeigte sich unter der Behandlung mit 6 MAP bei der 17-OHCS-Ausscheidung ein der 17-KS-Ausscheidung paralleles Verhalten, d.h. bei Pat. 3 bewegten sich die Ausscheidungswerte der 17-OHCS während der Behandlung mit 3,9 und 10,9 mg/24 h (niedrigste und höchste Ausscheidungswerte) wiederum aus dem unteren in den oberen Vertrauensbereich; bei Pat. 5 erfolgte eine Senkung der 17-OHCS-Ausscheidung in den unteren Vertrauensbereich.

3. Pregnan diol und Pregnantriol

Die PD- und PT-Ausscheidung vor und während der Gabe von 6-MAP wurde bei Pat. 5 und 6 bestimmt. Mit 0,51 mg PD und 0,13 mg PT/24 h (Mittelwerte aus 2 Einzelbestimmungen vor 6-MAP-Gabe) und 0,47 mg PD und 0,13 mg PT/24 h (Mittelwerte aus drei Einzelbestimmungen unter Gabe von 6-MAP) befanden sich die Ausscheidungswerte bei Pat. 5 in einem Bereich, wie er bei Frauen in der Proliferationsphase, mit Amenorrhoe und in der Postmenopause gefunden wird (FOTHERBY, 1960; NOCKE et al., 1963; STAEMMLER, 1965). Bei Pat. 6 zeigte sich mit 0,87 mg PD und 0,99 mg PT/24 h vor Gabe von 6-MAP und mit 0,57 mg PD und 0,85 mg PT/24 h

(Mittelwerte aus je 5 Einzelbestimmungen unter der Behandlung mit 6 MAP) ein ähnliches Bild.

4. Oestradiol-17 β , Oestron und Oestriol

Die drei klassischen Oestrogene wurden ebenfalls bei den Pat. 5 und 6 vor und unter 6-MAP-Behandlung bestimmt. Bei Pat. 5 liegen die Gesamtoestrogene mit 6,4 μg vor und 5,8 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ unter der Medikation im normalen Ausscheidungsbereich adrener Oestrogene. Die Relationen der drei Oestrogene ($\text{Oe}_2:\text{Oe}_1:\text{Oe}_3$) untereinander erfahren durch die Gabe von 6-MAP keine wesentliche Änderung (1 : 1 : 0,7 vor, 1 : 1 : 0,5 unter 6 MAP).

Bei Pat. 6 liegen die Gesamtoestrogene mit 6,1 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ vor Gabe von 6-MAP ebenfalls im Normalbereich adrener Oestrogenausscheidung. Die Relation der drei klassischen Oestrogene zueinander entspricht mit 1 : 1 : 0,1 etwa der von Pat. 5.

Mit 6,5 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ Gesamtoestrogene und 2,4 (Oe_2), 2,3 (Oe_1) und 1,2 μg (Oe_3)/24 h alles Mittelwerte aus 5 Einzelbestimmungen) tritt unter Gabe von 6 MAP summarisch keine wesentliche Veränderung sowohl der Absolutausscheidung als auch der Relation der Oestrogene zueinander auf. Bei den letzten beiden Einzelbestimmungen (2./3. und 4./5. 3. 66; Tab. 8) ist eine Tendenz zu höheren Absolutwerten der Gesamtoestrogene festzustellen, die auf einer Vermehrung des Oestradiols-17 β beruht und sich in einer Veränderung der Relation zugunsten des Oestradiols-17 β äußert (1 : 0,6 : 0,5 in der letzten Oestrogenbestimmung).

III. Diskussion

Wie die Tabellen 1-5 und 7 und Abbildung 7-12 zeigen, sind die Ergebnisse aus der Untersuchung über die Beeinflussung der HPG-Ausscheidung im Urin durch orale Gabe von 6-MAP sehr unterschiedlich. Die Beobachtung einer starken zentralen Wirksamkeit, d.h. der Depression der Hypophysenfunktion im Tierversuch (GLENN, 1959; LOGOTHETOPOULOS et al., 1961; DESAULLES & KRÄHENBÜHL, 1962; GOISIS, 1964; ERICSSON & DUTT, 1965) konnte bei unseren Patientinnen nicht eindeutig gemacht werden. Auf der anderen Seite bestätigen unsere Untersuchungen ebensowenig eindeutig die Ergebnisse anderer Autoren, wonach durch Gabe von 6-MAP keine Depression der HPG-Ausscheidung im Urin feststellbar ist (GREENBLATT & BARFIELD, 1959; KUPPERMAN & EPSTEIN, 1962; LARON et al., 1963; FUCHS et al., 1964). Bei einer Patientin (Pat. 6) zeigte sich sogar eine signifikante Erhöhung der HPG-Ausscheidung bei 4 von 5 gegenüber dem Ausgangswert erhöhten Werten unter der Gabe von 6-MAP.

Diese unterschiedlichen Ergebnisse aus unserer Versuchsreihe stehen folgenden zusammengefaßten Ergebnissen aus der Literatur gegenüber:

1. Ovulationshemmung bei oraler Gabe von 10 - 15 mg (EICHNER, 1963, 1964) und 40 mg 6-MAP/die (GREENBLATT & BARFIELD, 1959). Auf diese Ovulationshemmung wurde aus dem fehlenden Pregnandiolanstieg in der zweiten Zyklushälfte geschlossen.
2. Senkung der HPG-Ausscheidung im Urin bei Ratten und Kaninchen (GLENN, 1959; LOGOTHETOPOULOS, 1961; DESAULLES & KRÄHENBÜHL, 1962) und Depression der HVL-Funktion beim Pavian (GOISIS, 1964; histologisch verifiziert) und Widder (ERICSSON & DUTT, 1965; Abnahme der Spermatogenase) unter oraler Gabe von 6-MAP.
3. Senkung der HPG-Ausscheidung im Urin bei parenteraler Zufuhr von 6-MAP (GREENBLATT & BARFIELD, 1959; KUPPERMAN & EPSTEIN, 1962; LARON et al., 1963).

4. Keine Senkung der HPG-Ausscheidung bei oraler Gabe von 40 - 100 mg 6-MAP (GREENBLATT & BARFIELD, 1959; KUPPERMAN & EPSTEIN, 1962, LARON et al., 1963; FUCHS et al., 1964).

Aus den oben zitierten Beobachtungen, daß 6 MAP bei parenteraler Zufuhr zu einer Verminderung der HPG-Ausscheidung im Urin führt, während dieser Effekt nach oraler Zufuhr nicht nachweisbar ist, läßt sich der Schluß ziehen, daß während der intestinalen Passage und der Leberpassage eine Veränderung an der Steroids substanz vorgenommen wird, die für den Ausfall der zentralen Wirkung verantwortlich ist. Diese Inaktivierung der zentralen Wirksamkeit bei oraler Applikation scheint bei den Tieren der obengenannten Versuche nicht vorzuliegen, denn hier war eine starke zentrale Wirkung durch Senkung der HPG-Ausscheidung, Dämpfung der Spermatogenese und histologische Veränderungen des HVL nachweisbar. Möglicherweise fehlen den bei den Versuchen verwendeten Tierspecies die zur Inaktivierung des MAP notwendigen Enzyme.

Aufgrund unserer Ergebnisse kann die Möglichkeit diskutiert werden, daß die Enzymaktivitäten bei der Inaktivierung des 6-MAP individuell verschieden sind. So sind z.B. Coli-stämme bekannt, die verschiedene Aktivitäten an Glukuronidasen und Dehydrogenasen besitzen. Ein unterschiedlicher Einfluß auf oral zugeführte Steroide wäre somit denkbar. (Nähere Einzelheiten bei DORFMAN u. UNGAR, 1965).

Es ist ebenfalls bekannt, daß die Oestrogene bei den Frauen in unterschiedlichen Relationen der drei klassischen Oestrogene zueinander ausgeschieden werden, was auf eine individuell unterschiedliche Aktivität der an der Umwandlung der Oestrogene ineinander beteiligten Hydroxylasen schließen läßt.

Mit einer unterschiedlichen Enzymaktivität ließe sich somit erklären, daß bei Pat. 3 (Abb. 9) eine Depression der HPG-Ausscheidung unter der Gabe von 6-MAP erfolgte, während bei den anderen Patientinnen keine Senkung der HPG-Ausscheidung feststellbar ist.

Bei Pat. 3 liegen neben der z.T. statistisch gesicherten Depression der HPG-Ausscheidung noch andere Hinweise auf eine zentrale Beeinflussung durch 6-MAP vor: Die 17-KS und 17-OHCS zeigen unter der Therapie einen Anstieg. Auffallend ist, daß die 17-KS- und 17-OHCS-Ausscheidungs-werte unter der Behandlung vom unteren in den oberen Ver-trauensbereich von normalen, gleichaltrigen Individuen wandern.

Diese Beobachtung wurde bei keiner anderen Patientin gemacht. Da die Ausscheidungen von 17-KS und von 17-OHCS Parameter für die Aktivität der Nebennierenrinde sind, erscheint eine Stimulierung der NNR unter der Gabe von 6 MAP denkbar. Aus Untersuchungen ist bekannt, daß es bei Aktivierung oder Depression einer Partialfunktion des HVL zu einer Depression oder Aktivierung einer anderen Partialfunktion des HVL kommen kann. SOLBACH (1966) konnte zeigen, daß nach Bremsung des ACTH durch Dexamethason im Urin eine Erhöhung der Gonadotropinausscheidung auftrat. Dieses "Shift"-Phänomen, das mit klinischen Beobachtungen korrespondiert - Amenorrhoe unter Stress - liegt möglicher-weise den Beobachtungen bei Pat. 3 zugrunde: Über eine Depression der gonadotropen Partialfunktion könnte es zu einer Aktivierung der Nebennierenrinde infolge einer er-höhten Bildung von ACTH im HVL gekommen sein.

Interessant ist der signifikante Anstieg der HPG-Aus-scheidung bei Pat. 6; ein Ausscheidungswert liegt sogar um das 2,5-fache über dem Wert vor Gabe des 6 MAP (Abb. 12). Hier hat die Gabe von 6 MAP im Vergleich zu Pat. 3 an-scheinend zu einem gegenteiligen Effekt geführt: Unter der Steroidgabe kam es offenbar zu einer Stimulierung der gona-dotropen Partialfunktion des HVL. Daß Steroidgaben einen dem einfachen Schema des Rückkopplungsmechanismus widerspre-chen den Effekt haben können, ist bekannt (HOHLWEG-EFFEKT). Ebenso bekannt ist, daß ein und dasselbe Steroid unter ver-schiedenen Bedingungen sowohl eine Aktivierung als auch eine Depression der HVL-Funktion bewirken kann. BUCHHOLZ et

al. (1964) haben durch die Gabe von Progesteron in der Follikelphase des Zyklus eine Vorverlegung des Gesamtgonadotropin-Gipfels erreichen können. Andererseits hat in der Postmenopause die Gabe von 200 mg mikrokristallinen Progesterons zu einer signifikanten Hemmung der HPG-Ausscheidung im Urin geführt (BUCHHOLZ et al., 1964). Der geringe Anstieg der Oestrogenausscheidung bei Pat. 6 am Ende der Urinsammlung (Tab. 8) läßt sich auf eine Stimulation durch den erhöhten Gonadotropinspiegel zurückführen. Es ist denkbar, daß Zellformationen der rudimentären Ovarien dieser Patientin (Gonadendysgenese) auf die Stimulation durch Gonadotropine mit einer Erhöhung der Oestrogenproduktion antworteten.

NOCKE et al., (1963) fanden bei einer Patientin mit Gonadendysgenese unter der Gabe von HCG (menschliches Choriongonadotropin) eine Steigerung der Oestrogenausscheidung, wobei vor allem eine Zunahme des Oestradiol-17 β vorlag mit einer Veränderung der Relation von 1,0:1,1:1,3 auf 1,0:0,5:0,4. Bei uns beruhte die Zunahme der Oestrogene ebenfalls vornehmlich auf einem Anstieg des Oestradiol-17 β . Die Relation veränderte sich von 1,0 : 1,0 : 0,1 vor 6-MAP-Gabe auf 1,0 : 0,6 : 0,5. bei der letzten Oestrogenausscheidung unter 6-MAP.

In der Aktivität der Nebennierenrinde ließ sich bei Pat. 6 keine auffällige Änderung feststellen: Die 17-KS, PD und PT, die als Ausscheidungsprodukte im Harn Indikatoren der NNR-Aktivität sind, blieben unter der Gabe von 6-MAP gegenüber den Ausgangswerten praktisch unverändert.

Während sich bei Pat. 3 (- von 5 erniedrigten Werten unter 6-MAP-Gabe sind zwei signifikant erniedrigt -) und Pat. 6 (- signifikante Erhöhung von mindestens 4 Werten bei insgesamt 5 erhöhten Werten -) unter Gabe von 6-MAP konstante, allerdings bei beiden Patientinnen entgegengesetzte Wirkungen auf die HPG-Ausscheidung im Urin nachweisen und sich

diese auf eine Beeinflussung des Endokriniums durch 6-MAP zurückführen lassen, ist die HPG-Ausscheidung der Pat. 1, 2, 4 und 5 unter der Gabe von 6 MAP so schwankend, daß sich keine Beziehung zur Medikation herstellen läßt. Es zeigen sich bei diesen Patientinnen unter der Medikation HPG-Werte, die sich signifikant voneinander unterscheiden.

Der Verdacht, daß es sich hierbei um die Folgen von Unregelmäßigkeiten bei der Urinsammlung handelt, kann dadurch beseitigt werden, daß eine parallele Schwankung bei der Ausscheidung der Steroide nicht nachweisbar ist, die bei Unregelmäßigkeiten in der Sammlung gefordert werden müßte.

Die Schwierigkeit der Deutung der von uns beobachteten Schwankungen liegt in der Unkenntnis über den Modus der Sekretion des HPG aus dem HVL, über den Verbleib und die Umwandlung des HPG im Organismus zwischen Sekretion und Nierenpassage und über die Ausscheidung des HPG im Urin selbst.

ALBERT (1959) vermutet eine 3-5 tägige Schwankung der Gonadotropinausscheidung im Urin bei Frauen in der Postmenopause. Diese noch nicht bestätigten Beobachtungen (APOSTOLAKIS & VOIGT, 1965) würden für eine endogen bedingte, zentrale Rhythmik der HPG-Ausscheidung sprechen.

Andere Beobachtungen sprechen dafür, daß der größere Teil der hypophysären Gonadotropine im Organismus in noch unbekannter Art inaktiviert und nur der kleinere Teil direkt in aktiver Form im Urin ausgeschieden wird (APOSTOLAKIS & VOIGT, 1965).

Hieraus könnten sich Schwankungen der täglichen HPG-Ausscheidung im Urin ergeben.

VIELHAUER & DÖLLE (1962) fanden bei fortlaufender Kontrolle der sogenannten Totalen Gonadotropen Aktivität im Blut eindeutig konstantere Werte als im Urin. Die Möglichkeit einer Abhängigkeit der HPG-Ausscheidung von der Diurese

wird diskutiert (SEGALOFF, 1961). Die Vermutung der Diureseabhängigkeit wird durch unsere Untersuchungen allerdings nicht gestützt: Bei Pat. 4 mit den größten Schwankungen in der HPG-Ausscheidung ließ sich ein paralleles Verhalten der Diurese nicht nachweisen.

Das Verhalten der 17 -KS und 17-OHCS bei den Pat. 1, 2 und 4 und das der 17-KS, 17-OHCS, des PD und PT und das der Oestrogene bei Pat. 5 war mit gering schwankenden Werten unter Gabe von 6-MAP unauffällig, so daß aus diesen Werten kein Hinweis auf eine Wirkung des 6 MAP bei diesen Patientinnen zu erhalten war.

In Tab. 9 wurden die Werte der Gonadotropinausscheidung der einzelnen Patientinnen vor der Gabe von 6 MAP den geometrischen Mitteln (GADDUM, 1945) aus den Werten der einzelnen Patientinnen unter Therapie mit 6 MAP gegenübergestellt. Bei den Pat. 1 - 4 liegen die Mittelwerte unter den Ausgangswerten, besonders deutlich bei Pat. 3 und 4, während bei Pat. 5 das geometrische Mittel mit dem Ausgangswert praktisch übereinstimmt und bei Pat. 6 um fast 100 % über dem Ausgangswert liegt. Die weiten Vertrauensbereiche resultieren aus den großen Schwankungen der Einzelwerte, aus denen die geometrischen Mittel errechnet wurden. Sie dienen nicht zum statistischen Vergleich zwischen Ausgangswert und geometrischem Mittel der Einzelwerte unter Medikation, denn sie wurden durch unterschiedliche statistische Methoden berechnet und entstammen nicht vergleichbaren Bevölkerungen. Sie dienen lediglich zur Demonstration der starken Schwankung der Einzelwerte, denn die Mittelwerte alleine legen bei den Pat. 1 - 4 die Vermutung einer eindeutigen Depression der HPG-Ausscheidung unter Gabe von 6 MAP nahe. Die geometrischen Mittel z.B. der Pat. 3 und 4 in Tab. 9 betragen beide etwa 65 % der entsprechenden Ausgangswerte; sie lassen jedoch eine gleichlautende Interpretation im Sinne einer eindeutigen HPG-Depression nicht zu, denn bei Pat. 4 resultiert das geometrische Mittel

aus 6 Werten, wovon 3 signifikant niedriger, 3 bedeutend, jedoch nicht signifikant höher als der Ausgangswert liegen, während bei Pat. 3 dem geometrischen Mittel Einzelwerte zugrunde liegen, die alle niedriger als der Ausgangswert sind. Dementsprechend unterschiedlich weit sind die Vertrauensbereiche beider Mittelwerte: Bei Pat. 3 von ca. 56 - 180, bei Pat. 4 von ca. 23 - über 400 % der ermittelten Aktivität.

Aufgrund des unterschiedlichen Verhaltens der Hormonwerte innerhalb der einzelnen Dosisgruppen (vgl. Pat. 3 und 4 (15 mg/die) und Pat. 5 und 6 (50 mg/die)) kann eine dosisabhängige Wirkung von 6-MAP nicht gefolgert werden.

C. Zusammenfassung

1. Es wurde versucht, an Hand der Literatur das heutige Wissen über die Beziehungen zwischen dem Hypothalamus-Hypophysensystem und den Gonaden, über die Ausscheidungsverhältnisse der hypophysären Gonadotropine und Keimdrüsenhormone und über die Beeinflußbarkeit der Gonadotropinausscheidung im Urin durch die Gabe von natürlichen und synthetischen Steroiden zusammengefaßt darzustellen.
2. Es wurde ein neues synthetisches Gestagen, das 6-methyl-17-hydroxy-Progesteronazetat (6-MAP), vorgestellt. In eigenen Untersuchungen wurde dessen Wirkung auf den Hypophysenvorderlappen, gemessen an der Gonadotropinausscheidung im Urin bei vier Frauen in der Postmenopause, einer Kastratin und einer Frau mit Gonadendysgenesie, bei oraler Applikation geprüft. Als weitere Indikatoren einer hypophysären Beeinflussung durch das synthetische Gestagen wurde die Ausscheidung von 17-Ketosteroiden, 17-Hydroxycorticosteroiden, Pregnandiol und Pregnantriol und Oestrogenen im Urin bestimmt. Eine genaue Beschreibung der Methodik wurde gegeben. Auf die Fehlermöglichkeiten, die sich aus der Urinsammlung ergeben, wurde hingewiesen. Eine Methode zur Kontrolle der Vollständigkeit von Urinsammlungen wurde einer kritischen Betrachtung unterzogen.
3. Bei der Auswertung der Ergebnisse wurden unterschiedliche Wirkungen von 6-MAP auf die Gonadotropinausscheidung im Urin festgestellt:
 - a. Bei einer Patientin führte die Gabe von 6-MAP zu einer Depression der Gonadotropinausscheidung. Der gleichzeitige Anstieg der 17-Ketosteroide und 17-Hydroxycorticosteroide wurde mit dem sog. "Shift" - Effekt erklärt.

- b. Bei einer anderen Patientin kam es unter der Gabe von 6-MAP zu einer signifikanten Erhöhung der Gonadotropinausscheidung im Urin. Als Ursache für den geringen Anstieg der Oestrogen-Ausscheidung im Harn wurde eine Stimulierung der rudimentären Ovarien (Gonadendysgenesie) durch die vermehrten Gonadotropine diskutiert.
- c. Bei den übrigen Patientinnen konnte kein Einfluß von 6-MAP auf die Gonadotropinausscheidung im Urin nachgewiesen werden. Die bestimmten Steroide waren unter der Gabe von 6-MAP gegenüber den Ausgangswerten unverändert.
- d. Eine Abhängigkeit der Wirkungen von 6-MAP auf das Endokrinium von der Höhe der Dosis war nicht nachzuweisen.

Herrn Prof. Dr. R. BUCHHOLZ, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Marburg, danke ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates.

Mein Dank gilt gleichermaßen Herrn Prof. Dr. W. Schmid, Direktor des Pharmakologischen Instituts der Universität Marburg, für die Übernahme des Correferates.

Herrn Dr. W. NOCKE, Leiter des Hormonlaboratoriums der Universitäts-Frauenklinik Marburg, danke ich für die statistische Auswertung der Tierversuche sowie für die wertvollen Ratschläge und vielfachen Anregungen, die mir bei der Abfassung des Manuskriptes nützlich waren.

Fräulein Silke MAGENS danke ich für die Anfertigung der Abbildungen, Fräulein Elsbe MARTENS für die Durchführung der Tierversuche, Fräulein Roswitha NOCKE, Fräulein Hedwig OSTHEIM und Frau Friderike PRETORIUS danke ich für die Durchführung der Steroidbestimmungen.

D. Literaturangaben

- ALBERT, A. Human Urinary Gonadotropins
Recent Progr. Hormones Res.
N.Y. 12, 227 (1956)
- ALBERT, A. Gonadotropins
Fert. and Steril. 10, 60 (1959)
- ALBERT, A. Effect of progesterone on HPG
SMITH, R.A. In Human Pituitary Gonadotropins,
ed. ALBERT, A., Thomas, Springfield, Ill.
1961.
- ALLEN, W.M. A simple method for analysing compli-
cated absorption curves of use in the
colorimetric determination of urinary
steroids
J. clin. Endocrin. 10, 71 (1950)
- APOSTOLAKIS, M. Gonadotropine
VOIGT, K.D. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1965
- APPLEBY, J.I. Indirect analysis of corticosteroids.
GIBSON, G. 1. The determination of 17-hydroxycorti-
NORYMBERSKY, J.K. costeroids
STUBBS, R.D. Biochem. J., 60, 453 (1955)
- ASCHHEIM, S. Über die Funktion des Ovariums
Zschr. Geburtsh. u. Gynäk. 90, 387 (1926)
- ASCHHEIM, S. Hypophysenvorderlappenhormon und
ZONDEK, B. Ovarialhormon im Harn von Schwangeren
Klin. Wschr. 6, 1322 (1927)
- ASCHNER, B. Über die Beziehungen zwischen Hypo-
physe und Genitale
Arch. Gynäk. 97, 200 (1912)
- BABCOCK, J.C. 6 α -Methyl-17 α -Hydroxyprogesterone
GUTSELL, E.S. 17-Acetylates; a new class of potent
HERR, M.E. progestins
HOGG, J.A. J. Am. Chem. Soc. 80, 2904 (1958)
STUCKI, J.C.
BARNES, L.E.
DULIN, W.E.

- BORTH, R.
DE WATTEVILLE, H.
LUNENFELD, B. Aktivité gonadotrope d'un extrait
d'urines de femmes en ménopause
Experimentia, Basel 10, 266 (1954)
- BORTH, R.
DICZFALUSY, E.
HEINRICHS, H.D. Grundlagen der statistischen Auswertung
biologischer Bestimmungen
Arch. Gynäk. 188, 497 (1957)
- BORTH, R.
LINDER, A.
RIONDEL, A. Urinary excretion of 17-hydroxy-corti-
costeroids and 17-Ketosteroids in
healthy subjects, in relation to sex,
age, body weight and height. Acta
endocrinol. 25, 33 (1957)
- BORTH, R. Simplified mathematics for multiple
bioassays
Acta endocrinol. 35, 454 (1960)
- BORTH, R. pers. Mitteilung (1965)
- BREUER, H.
NOCKE, W. Hormonbestimmungen in Gynäkologie
und Geburtshilfe
Georg Thieme-Verlag (1967, im Druck)
- BROWN, J.B. Urinary excretion of oestrogens during
the menstrual cycle
Lancet 320 (1955)
- BROWN, J.B. A chemical method for the determination
of oestriol, oestrone and oestradiol
in human urine.
Biochem. J., 60, 185 (1955a)
- BROWN, J.B.
BULBROOK, R.D.
GREENWOOD, F.C. An additional purification step for a
method estimating oestriol, oestrone
and oestradiol-17 β in human urine
J. Endocrinol. 16, 49 (1957)
- BROWN-SEQUARD, C.E. Des effets produits chez l'homme par
des injections sous-cutanées d'un
liquide retiré des testicules frais de
cobaye et de chien
Compt. rend. Soc. de biol. Par. 9 (1889)

- CALLOW, N.H.
CALLOW, R.H.
EMMENS, C.W. Colorimetric determination of substances containing the grouping $-\text{CH}_2-\text{CO}-$ in urine extracts as an indication of androgen content
Biochem. J., 32, 1312 (1938)
- DESAULLES, P.A.
KRÄHENBÜHL, CH. Comparaison du spectre d'activité de certains gestagenes du synthese
Acta endocrinol. 40, 217 (1962)
- DIBBELT, L.
BUCHHOLZ, R. Beziehungen zwischen der Ausscheidung von Pregnan diol im mensuellen Zyklus und dem histologischen Bild des Endometriums sowie des Ovars
Geburtsh. u. Frauenh., 14, 604 (1953)
- DICZFALUSY, E.
HEINRICHS, H.D. Gonadotropine und ihre Bestimmung
Arch. Gynäk. 187, 556 (1956)
- DINGLE, J.T. Preliminary report on Provest-study
Int. J. Fert. 8, 711 (1963)
- DONINI, P.
MARCHETTI, E. Su alcune caratteristiche chimiche della gonadotropina umana e della gonadotropina corionica
Farmaco, 7, 418 (1952)
- DONINI, P.
PUZZUOLI, D.
D'ALESSIO, J.
LUNENFELD, B.
ESHKOL, A.
PARLOW, A.F. Purification and separation of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) from human postmenopausal gonadotropin (HMG).
Acta endocrinol. 52, 186 (1966)
- DORFMAN, R.I.
UNGAR, F. Metabolism of steroid hormones
Acad. Press, New York and London (1965)
- EICHNER, E. Medroxyprogesterone acetate, its use in family spacing
The Ohio State Medical J. Vol. 59 (1963)
- EICHNER, E. Clinical uses of 17α -hydroxy- 6α -methylprogesterone acetate in gynecology and obstetrics
Am. J. Obstet. Gynec. 86, 171 (1963 a)

- EICHNER, E. Control of fertility
J. Kentucky State Med. Ass., March 1964
- ELERT, R. Hypophysenvorderlappen und Nebennieren-
rinde in ihren Beziehungen zu Zyklus,
Gravidität und Gestosen
Arch. Gynäk. 182, 48 (1953)
- ELERT, R. ' Die Hypophyse ' in SEITZ-AMREICH
Biologie und Pathologie des Weibes
Urban & Schwarzenberg, Berlin, 1953a
- ERICSON, R.J. Progesterone and 6 α -methyl-17 α -hydroxy-
DUTT, R.H. progesterone Acetate as inhibitors of
spermatogenesis and accessory gland
function in the ram
Endocrinology 77, 203 (1956)
- EVANS, H.M. ' Physiology of the Gonadotropins ' in
SIMPSON, M.E. The Hormones, Bd. II, Acad. Press,
New York, 1950
- EVERETT, J.W. Endocrinology (Springfield, III.)
43, 389 (1948); zit. nach BUCHHOLZ(1956a)
- FUCHS, F. Studies on pituitary, adrenocortical,
JOHNSON, S.G. and ovarian function during treatment
MOELLER, K.J.A. with medroxyprogesteroneacetate
Int. J. Fert. 9, 147 (1964)
- FUKUSHIMA, M. Urinary FSH and LH excretion during the
STEVENS, V.C. normal menstrual cycle
GANTT, C.L. J. clin. endocrinol. metabol. 24, 205 (1964)
VORYS, N.
- FOTHERBY, K. Excretion of pregnanetriol during the
normal menstrual cycle
British Med. J. I, 1545 (1960)
- GADDUM, J.H. Lognormal distributions
Nature (London) 156, 463 (1945)

- GADDUM, J.H. Report on biological standards. III.
Methods of biological assay depending on
aquantal response
Spec. Rep. Ser. Med. Res. Counc.(Lond.)
1, 183 (1933)
- GADDUM, J.H. Simplified mathematics for bioassay
J. Pharm. Pharmacology 6, 345 (1953)
- GLENN, E.M. Metabolism 8, 265 (1959)
RICHARDSON, S.L. zit. nach LARON et al. (1963)
BOWMAN, B.J.
- GOISIS, M. Lack of masculinisation in female
foetuses born from mothers treated
with MAP during gestation - clinical
observations on 222 cases
Acta endocrinol. Suppl. 67, 114 (1962)
- GOISIS, M. Effects of progestational steroids on
the morphology of anterior pituitary
and ovaries in the baboon
Int. J. Fert. 9, 175 (1964)
- GOLD, J. J. The efficacy of Provest in inhibiting
ovulation
Int. J. Fert. 8, 725 (1963)
- GOULD, J. Control of ovulation with Provest
Int. J. Fert. 8, 737 (1963)
- GREENBLATT, R.B. The progestational activity of 6-methyl-
BARFIELD, E.W. 17-acetoxypregesterone
South. Med. J. 52, 345 (1959)
- HALLER, J. Ovulationshemmung durch Hormone
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1965
- HARRIS, G.W. Das ZNS und die endokrinen Drüsen
Triangel 6, 7 (1964)
- HARRIS, G.W. Entwicklung und heutiger Stand der
Neuroendokrinologie
Dtsch. Med. Wschr. 90, 61 (1965)

- HEINRICHS, H.D. Untersuchung über die Extraktion von
EULEFELD, F. hypophysärem Gonadotropin aus Urin
Acta endocrinol., Suppl. 53 (1960)
- HOHLWEG, W. Die hormonal-nervöse Regulierung der
JUNKMANN, K. Funktion des Hypophysenvorderlappens
Klin. Wschr. 11, 321 (1932)
- JOHNSEN, S.G. Studies on urinary gonadotrophins I.
Large scale preparation of highly
active gonadotrophins from the urine
of postmenopausal women
Acta endocrinol. 20, 101 (1955)
- KAUFMANN, C. Untersuchungen über die biolog. Be-
WESTPHAL, U. deutung der Ausscheidungsprodukte des
ZANDER, J. Gelbkörperhormones
Arch. Gynäk. 179, 247 (1951)
- KAUFMANN, C. Über Sexualhormone der Frau, Rückblick
und Ausblick
Klin. Wschr. 36, 1145 (1958)
- KUPPERMAN, H.S. Medroxyprogesterone acetate in the
EPSTEIN, J.A. treatment of constitutional sexual
precocity
J. Clin. Endocrin. Met. 22, 456 (1962)
- LARON, Z. Effects of 17 α -hydroxy-6 α -methyl-
RUMNEY, G. progesteroneacetate (Depo-Provera)
RAT, L. on urinary gonadotrophins and oestrogens
NAJI, N. in man
Acta endocrinol. 44, 75 (1963)
- LEONE, U. Analisi differenziale dell ' FSH e dell '
FRANCESCHELLI, A. LH urinari nel ciclo mestruale
FERRERI, A. Monit. ostetr.-ginec. 36, 1:11 (1965)
- LEVIN, L. Quantitative assay of 'follicle stimu-
TYNDALE, H.H. lating' substances
Endocrinol. 21, 619 (1937)
- LOGOTHETOPOULOS, J. Effects Produced in Rats by the Admini-
SHARMA, B.B. stration of 6 α -Methyl-17 α - Hydroxy-
KRAICER, J. progesterone Acetate from Birth to
Maturity
Endocrinol. 68, 417 (1961)

- LINDER, A. Planen und Auswerten von Versuchen
Birkhäuser-Verlag, Basel, 1959
- LINDER, A. Statistische Methoden
Birkhäuser-Verlag, Basel, 1963
- LIVINGSTON JR, N.B. Medroxyprogesterone acetate and estrogen
to inhibit fertility
Int. J. Fert. 8, 699 (1963)
- LORAINÉ, J.A. Some observations on the estimation
BROWN, J.B. of gonadotrophins in human urine
Acta endocrinol. 17, 250 (1954)
- LORAINÉ, J.A. Further observations on the estimation
BROWN, J.B. of urinary gonadotropin in non-preg-
nant human subjects
J. clin. Endocrin. Met. 16, 1180 (1956)
- LORAINÉ, J.A. The effect of anti-ovulatory compounds
on hormone excretion
Int. J. Fert. 9, 155 (1964)
- LUNENFELD, B. Urinary Gonadotropins
Proceedings of the 2nd International
Congress of Endocrinology, London 1964,
Excerpta Medica Foundation, Amsterdam
- LUNENFELD, B. The ovarian response to exogenous human
gonadotropins alone and during simul-
taneous administration of progestogens
Int. J. Fert. 9, 167 (1964)
- MCARTHUR, J.W. The urinary excretion of interstitial-
WORCESTER, J. cell and follicle-stimulating hormone
INGERSOLL, F.M. activity during the normal menstrual
cycle
J. clin. endocrinol. 18, 1186 (1958)
- MEDGYESI, G. Eine einfache Methode zur Kontrolle der
KATONA, K. sorgfältig durchgeführten Einsammlung
des Untersuchungsharns
Ärztl. Laborat. 7, 247 (1961)

- MIYAKE, T. Progestational activity of certain
PINCUS, G. 19-norsteroids and progesterone derivatives
Endocrinol. 63, 816 (1958)
- MOGHISSI, K.S. Provera-ethinyl-estradiol for control
of conception
Int. J. Fert. 8, 703 (1963)
- NOCKE, W. A study of colorimetric estimation of
oestradiol-17 β , oestradiol-17 α , oestrone,
oestriol, and 16-epi-oestriol by the
KOBBER-reaction
Biochem. J. 78, 593 (1961)
- NOCKE, W.
BUCHHOLZ, R.
NOCKE, L. Über die Ausscheidung von Keimdrüsen-
steroiden, Nebennierenrindensteroiden
und hypophysären Gonadotropinen bei
Gonadendysgenese
Arch. Gynäk. 198, 480 (1963)
- NOCKE, W. Die hypophysar-ovariellen Regulations-
vorgänge während der Zyklus und bei der
Auslösung der Ovulation
12. Sitzung des Colloquium Endocrinolo-
gicum, Marburg/Lahn, 9.7.1965,
unveröffentlicher Vortrag
- NORYMBERSKY, J.K.
STUBBS, R.D.
WEST, H.F. Assessment of adrenocortical activity
by assay of 17-ketogenic steroids in
urine
Lancet, I, 1276 (1953)
- OBER, K.G. 'Ovar' in LABHART: Klinik der inneren
Sekretion, Springer-Verlag
Berlin 1957
- PEDERSEN-BJERGAARD, K. Oestrogenic, androgenic and gonado-
TØNNESEN, M. trophic substances in the urine of normal
women
Acta endocrinol. 1, 38 (1948)
- PEDERSEN-BJERGAARD, G. Oestrogenic and gonadotrophic substances
PEDERSEN-BJERGAARD, K. in the urine from a woman with normal
menstrual cycles and normal pregnancies
Acta endocrinol. 1, 263 (1948)

- Philipp, E. 'Hormone der Plazenta' in SEITZ-AMREICH:
Biologie und Pathologie des Weibes
Urban & Schwarzenberg, Berlin 1953
- RICHTERICH, R. Klinische Chemie-Theorie und Praxis
Akad. Verlagsgesellschaft, Frankfurt
1965
- ROSENBERG, E. Studies on the urinary excretion of
KELLER, P.J. follicle-stimulating and luteinizing
hormone activity during the menstrual
cycle
J. clin. Endocrinol. Met. 9, 1262 (1965)
- SALA, G. Progestational activity of 6'-methyl-
CAMERINO, B. 17 α -hydroxyprogesterone-acetate
CAVALLERO, C. Acta endocrinol. 29, 508 (1958)
- SALA, G. Influence of 6-MAP on female sexual
BALDRATTI, G. function in NOWAKOWSKI (Hrsg.):
ARCARI, G. 6. Sympos. der Deutsch. Gesellschaft
f. Endokrinologie, Springer, Berlin 1960
- SCHMIDT-ELMENDORFF, H. (1966)
Die Gonadotropinausscheidung bei Frauen
während des mensuellen Zyklus
12. Sympos. Deutsch. Gesellschaft für
Endokrinologie
Springer-Verlag, Heidelberg 1966
- SEGALOFF, A. in 'Human pituitary gonadotropins'
ALBERT, A. (ed.) Thomas, Springfield (Ill.)
1961, p. 48
- STUCKI, J.C. Maintenance of pregnancy in ovariectomi-
zed rats with some newer progestins
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 92, 500 (1958)
- SUCHOWSKI, G.K. Zur Frage des Mechanismus der Ovulations-
BALDRATTI, G. hemmung und vergleichende Untersuchungen
der chemischen Struktur und biologischen
Wirkung einiger Steroide
Beitr. zur Fert. und Steril., vierte Folge
Ferd. Enke-Verlag, Stuttgart 1964

- SUCHOWSKI, G.K.
BALDRATTI, G.
ARCARI, G.
SCRASTA, E. Die Beeinflussung von zentralen Regulationsmechanismen durch Steroide
Arzneim.-Forsch.(Drug-Res.) 15, 437 (1965)
- TIETZE, K. Zur Genese und Prognose der Notstandsamenorrhoe
Zbl. Gynäk. 377 (1948)
- TRONCONI, G. Longterm observations of the offspring of patients given synthetic progestative substances in the course of their pregnancy
Int. Congr. on hormonal steroids, Milan 1962
Excerpta Medica, International Congr. Series No. 51
- UFER, J. Hormontherapie in der Frauenheilkunde
Walter de Gruyter & Co., Berlin 1959
- VIELHAUER, E.
DÖLLE, W. Gonadotropinspiegel im Blut und Urin von Frauen mit idiopathischer Leberzirrhose in der Menopause
Acta hepato-splenol. (Stuttg.) 9, 293 (1962)
- WESTMAN, A. Die neurohumorale Steuerung des Hypophysenzwischenhirnsystems und ihre Störungen
in SEITZ-AMREICH: Biologie und Pathologie des Weibes
Urban & Schwarzenberg, Berlin 1953
- WESTMAN, A. Die übergeordnete Regulation des Zyklus
Arch. f. Gynäk. 183, 131 (1953a)
- WIED, G.L.
DAVIS, M.E. Provest and Provera: a comparative study
Int. J. Fert. 8, 601 (1963)
- ZANDER, J. Über das Verhalten des Progesterons im Organismus
Geburtsh. u. Frauenh. 11, 312 (1951)
- ZANDER, J. Progesterone in human blood and tissues
Nature 174, 406 (1954)

- ZONDEK, B. Über die Funktion des Ovariums
Zschr. Geburtsh. Gynäk. 90, 378 (1926)
- ZONDEK, B. Die Hormone des Ovariums und des Hypo-
physenvorderlappens
Springer-Verlag, Berlin (1931)
- ZONDEK, B. Über die Ausscheidung von Prolan im
Harn alter Frauen
Klin. Wschr. II, 1839 (1932)

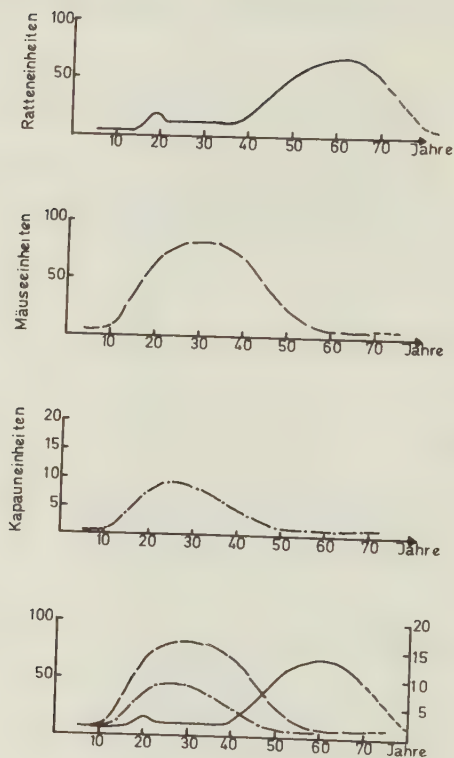
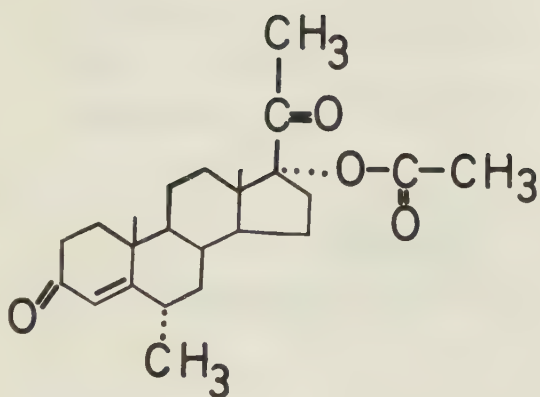


Abb. 1-3: Tägliche Ausscheidung von Gonadotropinen, Oestrogenen und Androgenen im Harn von Mädchen und Frauen aller Altersstufen (nach PEDERSEN-BJERGAARD & TØNNESEN, 1948)

Abb. 4 : Die Kurven aus Abb. 1-3 sind übereinandergelegt



6-MAP

Abb. 5: 6 α -methyl-17 α -hydroxy-Progesteronazetat (6-MAP)

PRINZIP BIOLOGISCHER HORMONBESTIMMUNGEN

STANDARD : 1 I.E. /mg
 3+3 - PUNKT - BESTIMMUNG
 $J=2$
 VERMUTETE AKTIVITÄT = 4 I.E. /4mg
 = 1 I.E. /mg

AKTIVITÄTS - UNTERSCHIED :

$M = \log(\text{ERMITTELTE AKTIVITÄT}) - \log(\text{VERMUTETE AKTIVITÄT})$
 = 0,903 - 0,602
 = 0,301

AKTIVITÄTS - QUOTIENT :

$R = \text{antilog } M = \text{antilog } 0,301 = 2$
 $\frac{\text{ERMITTELTE AKTIVITÄT}}{\text{VERMUTETE AKTIVITÄT}} = \frac{2}{1} = 2$

GESUCHTE AKTIVITÄT :

ERMITTELTE AKTIVITÄT = $R \times \text{VERMUTETE AKTIVITÄT}$
 = $2 \times 1 \text{ I.E. /mg}$
 = 2 I.E. /mg

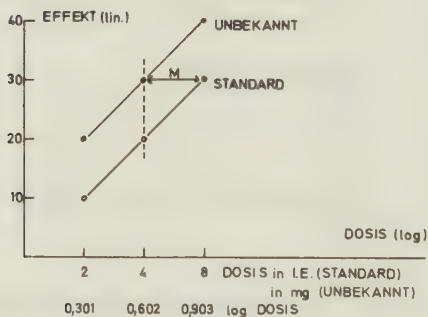


Abb. 6:

Der prinzipielle Rechengang einer biologischen Hormonbestimmung und die schematische Darstellung der Dosis-Wirkungskurven von Standard- und unbekanntem Präparat. Der horizontale Abstand 'M' ist der Ausdruck des Aktivitätsunterschiedes

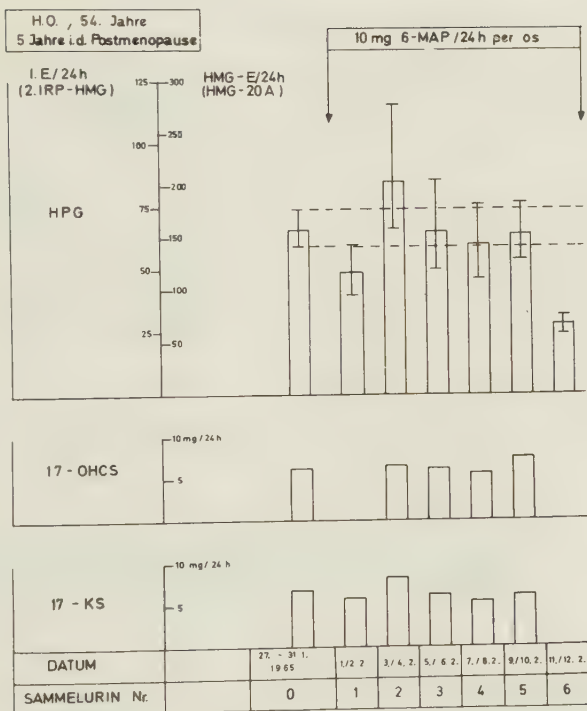


Abb. 7:

Graphische Darstellung der Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 10 mg 6 MAP per os bei Pat. 1 (H.O., 54 Jahre; 5 Jahre in der Postmenopause).

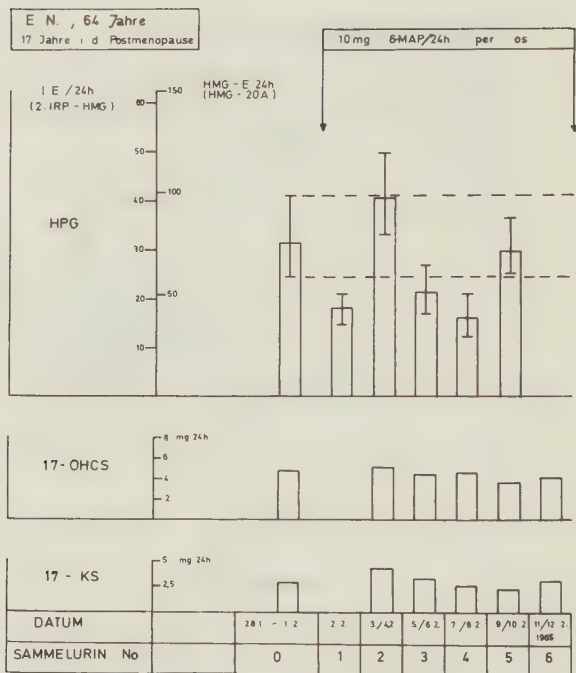


Abb. 8: Graphische Darstellung der Ausscheidung von HPG der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 10 mg 6 MAP per os bei Pat. 2 (E.N., 64 Jahre; 17 Jahre in der Postmenopause).

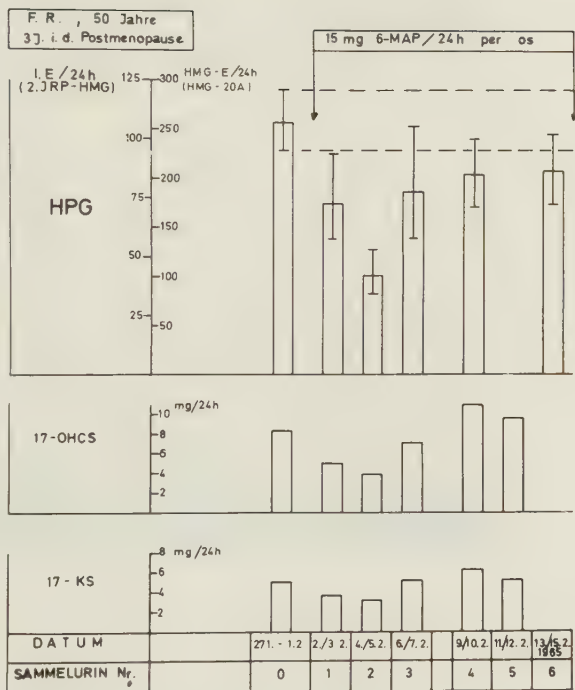


Abb. 9: Graphische Darstellung der Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 15 mg 6 MAP per os bei Pat. 3 (F.R., 50 Jahre, 3 Jahre in der Postmenopause).

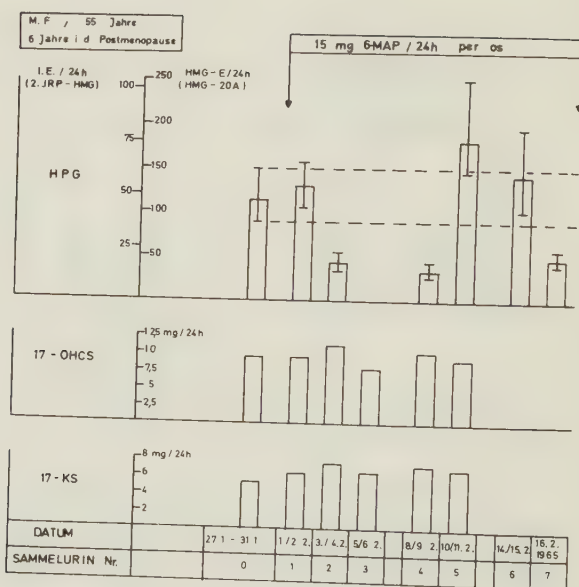


Abb. 10: Graphische Darstellung der Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 15 mg 6 MAP per os bei Pat. 4 (M.F., 55 Jahre; 6 Jahre in der Postmenopause).

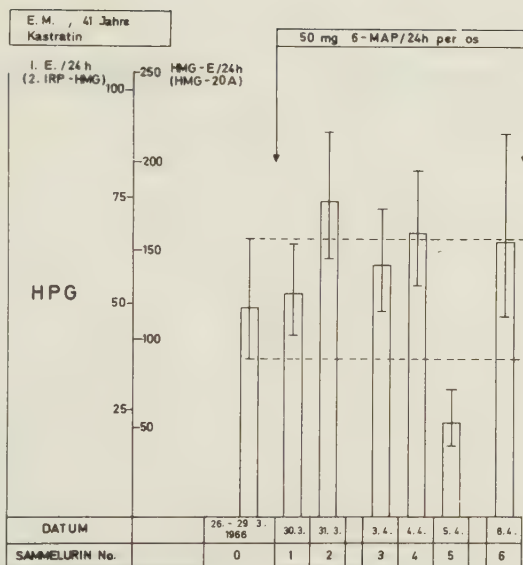


Abb. 11: Graphische Darstellung der Ausscheidung von HPG pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 50 mg 6 MAP per os bei Pat. 5 (E.M., 41 Jahre; Zustand nach Ovariektomie beiderseits).

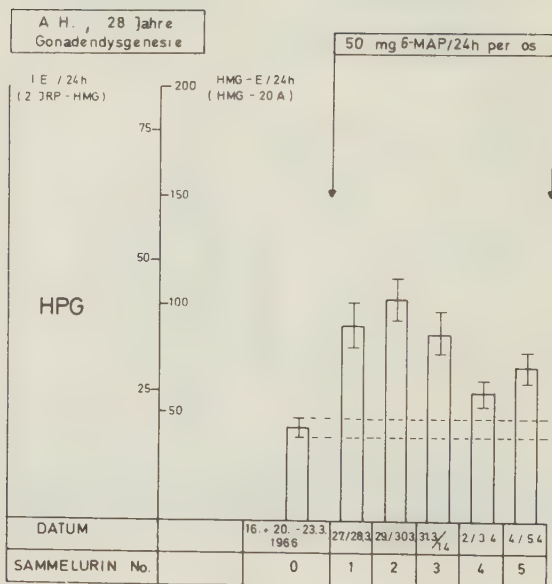
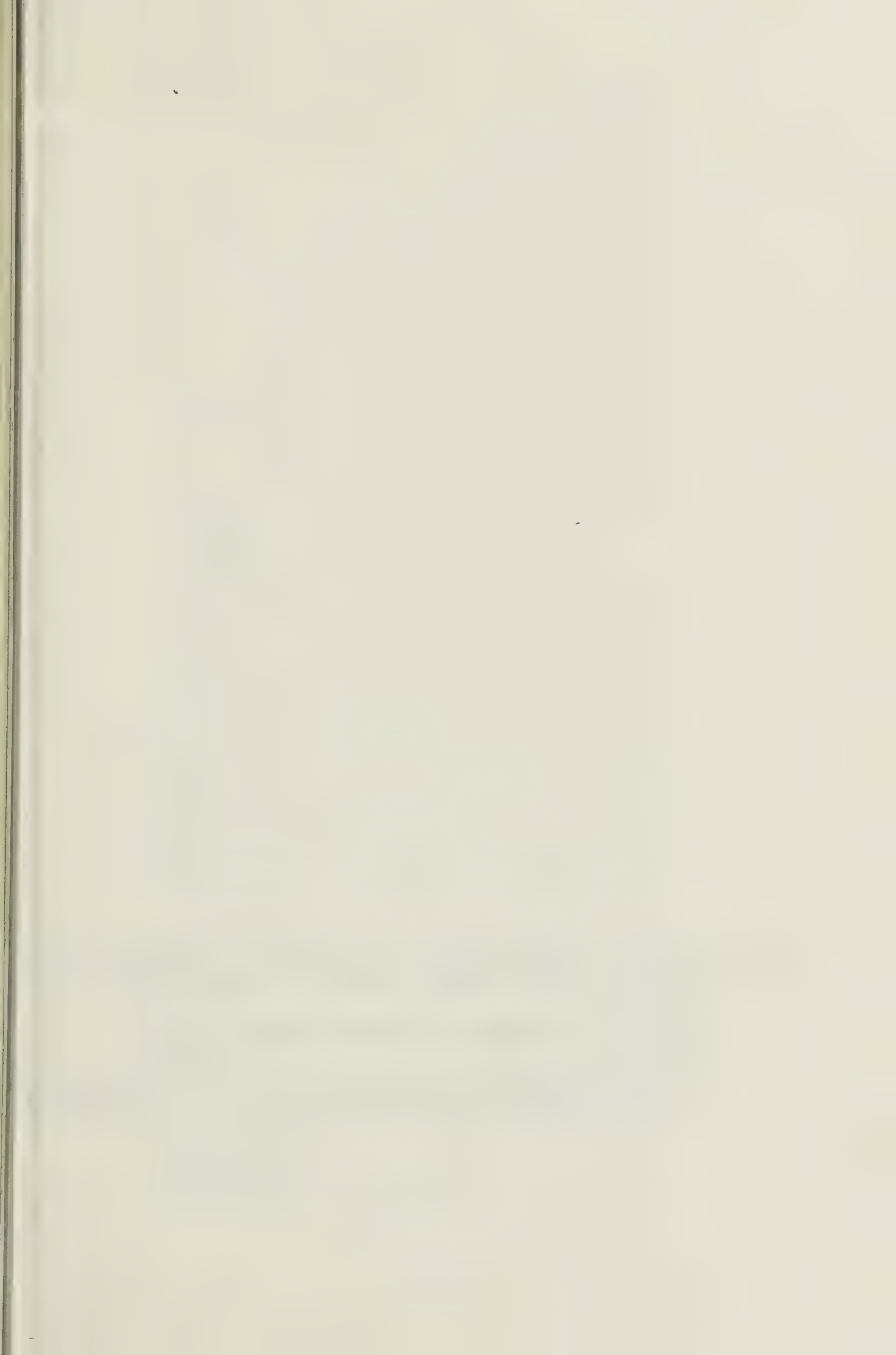


Abb. 12: Graphische Darstellung der Ausscheidung von HPG pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 50 mg 6 MAP per os bei Pat. 6 (A.H., 28 Jahre; Gonadendysgenese).



Tab. 1 : Die Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 10 mg 6 MAP per os bei Pat. 1 (H.O., 54 Jahre; 5 Jahre in der Postmenopause).

Die 17-KS sind angegeben in mg DHA-Äquiv./24 h, die 17-OHCS in mg DHA-Äquiv./24 h ohne Molekulargewichtskorrektur.

g = Regressionskoeffizient für die Gültigkeit der Regression,
= Präzisionsindex nach GADDUM, L = dessen reziproker Wert nach WOOLF.

Bedin- gungen	Sammel- Urin No.	HMG-E/ 24 h	Vertrauensgrenzen P = 0.05		g	λ	L	17-OHCS mg/24 h	17-KS mg/24 h
			in HMG-E/24 h	in % der ermit- telt. Aktivität					
ohne Therapie 10 mg 6 MAP / 24 h per os	0	157.74	140.14-177.71	88.8-112.6	0.0175	0.0694	14.40	6.2	6.6
	1	116.47	95.19-143.25	81.7-123.0	0.0241	0.1205	8.30	-	5.7
	2	203.37	158.17-277.85	77.8-136.6	0.0437	0.1377	7.26	6.5	8.2
	3	155.78	119.69-204.83	76.8-131.5	0.0231	0.1425	7.02	6.2	6.2
	4	142.22	110.90-181.58	78.0-127.7	0.0231	0.1425	7.02	5.6	5.3
	5	152.48	128.40-180.81	84.2-118.6	0.0797	0.1141	8.77	7.3	6.0
	6.	66.67	56.65-77.42	85.0-116.1	0.0249	0.0685	14.60	-	-

Tab. 2: Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 10 mg 6 MAP per os bei Pat. 1 (E.N., 64 Jahre; 17 Jahre in der Postmenopause). Die 17-KS sind angegeben in mg DHA-Äquiv./24 h, die 17-OHCS in mg DHA-Äquiv./24 h ohne Molekulargewichtskorrektur.
g = Regressionskoeffizient für die Gültigkeit der Regression
 λ = Präzisionsindex nach GADDUM, L = dessen reziproker Wert nach WOOLF

Bedin- gungen	Sammel- Urin No.	HMG-E/ 24 h	Vertrauensgrenzen P = 0.05		g	λ	L	17-OHCS mg/24 h	17-KS mg/24 h
			in HMG-E/24 h	in % der ermit- telt. Aktivität					
ohne Therapie	0	75.76	58.80-98.57	77.6-130.1	0.078	0.146	6.84	4.8	2.9
	1	43.02	35.86-50.53	83.4-117.5	0.0797	0.1141	8.77	-	-
	2	97.63	79.50-119.50	81.4-122.4	0.0241	0.1205	8.30	5.2	4.3
	3	51.49	40.83-64.48	79.3-125.2	0.0241	0.1205	8.30	4.4	3.1
	4	38.78	29.12-50.61	75.1-130.5	0.0231	0.1425	7.02	4.7	2.6
	5	71.63	60.52-87.80	84.5-122.6	0.0797	0.1141	8.77	3.7	2.3
	6	-	-	-	-	-	-	4.2	3.1

10 mg 6-MAP / 24 h
per os

Tab. 3 : Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 15 mg 6 MAP per os bei Pat. 3 (F.R., 50 Jahre; 3 Jahre in der Postmenopause). Die 17-KS sind angegeben in mg DHA-Äquiv./24 h, die 17-OHCS in mg DHA-Äquiv./24 h ohne Molekulargewichtskorrektur.

g = Regressionskoeffizient für die Gültigkeit der Regression
= Präzisionsindex nach GADDUM, L = dessen reziproker Wert nach WOOLF

Bedin- gungen	Sammel- Urin-No.	HMG-E/ 24 h	Vertrauensgrenzen P = 0.05		g	λ	L	17-OHOS mg/24 h	17-KS mg/24 h
			in HMG-E/24 h	in g der ermit- telten Aktivität					
ohne Therapie	0	256.34	227.94-289.71	88.9-113.0	0.0175	0.0694	14.40	8.3	5.1
	1	172.83	138.77-224.86	80.3-130.1	0.0241	0.1265	8.30	5.0	3.7
	2	102.42	83.74-127.58	81.8-124.6	0.0241	0.1205	8.30	3.9	3.2
	3	186.34	138.09-253.47	74.1-136.0	0.0231	0.1425	7.02	7.1	5.2
	4	204.15	170.53-240.23	83.5-117.7	0.0797	0.1141	8.77	10.9	6.3
	5	-	-	-	-	-	-	9.6	5.3
15 mg 6 MAP/24 h per os		207.96	173.98-244.97	83.7-117.8	0.0797	0.1141	8.77		

Tab. 4 : Ausscheidung von HPG, der 17-OHCS und 17-KS pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe 15 mg 6 MAP per os bei Pat. 4 (M.F., 55 Jahre; 6 Jahre in der Postmenopause). Die 17-KS sind angegeben in mg DHA-Äquiv./24 h, die 17-OHCS in mg DHA-Äquiv./24 h ohne Molekulargewichtskorrektur.

g = Regressionskoeffizient für die Gültigkeit der Regression,
= Präzisionsindex nach GADDUM, L = dessen reziproker Wert nach WOOLF

Bedin- gungen	Sammel- Urin-No.	HMG-E/ 24 h	Vertrauensgrenzen P = 0.05		g	λ	L	17-OHCS mg/24 h	17-KS mg/24 h
			in HMG-E/24 h	in % der ermit- telt. Aktivität					
ohne Therapie	0	113.43	88.32-148.28	77.9-130.7	0.078	0.146	6.84	9.4	5.3
15 mg 6 MAP/24 h per os	1	129.16	104.71-157.90	81.1-122.3	0.0241	0.1205	8.30	9.4	6.3
	2	42.43	33.53-54.99	79.0-129.6	0.0437	0.1377	7.26	11.1	7.2
	3	-	-	-	-	-	-	7.7	6.4
	4	33.03	25.34-42.27	76.7-128.0	0.0231	0.1425	7.02	9.9	7.1
	5	179.26	145.13-248.38	81.0-138.6	0.0123	0.1274	7.85	9.1	6.8
	6	140.35	101.35-194.01	72.2-138.2	0.0123	0.1274	7.85	-	-
	7	47.04	39.64-57.45	84.3-122.2	0.0797	0.1141	8.77	-	-

Tab. 5 : Ausscheidung von HPG pro 24 Stdn im Urin vor und während
der täglichen Gabe von 50 mg 6 MAP per os bei Pat. 5
(E.M.41 J.; Zustand nach Ovariektomie beiderseits).
g = Regressionskoeffizient für die Gültigkeit der Regression-
= Präzisionsindex nach GADDUM, L = dessen reziproker Wert
nach WOOLF.

Bedin- gungen	Sammel- Urin-No.	HMG-E/ 24 h	Vertrauensgrenzen $P = 0.05$		g	λ	I
			in HMG-E/24 h	in % der ermittel- ten Aktivität			
ohne Therapie	0	117.8	88.7-156.2	75.3-132.6	0.0073	0.1210	8.26
	1	125.7	101.9-153.7	81.1-122.3	0.0110	0.0729	13.72
	2	177.6	145.1-216.8	81.7-122.1	0.0110	0.0729	13.72
	3	141.7	115.2-173.1	81.3-122.2	0.0110	0.0729	13.72
	4	159.4	130.0-194.7	81.6-122.2	0.0110	0.0729	13.72
	5	52.7	39.8-70.1	75.4-133.0	0.0073	0.1210	8.26
	6	155.1	112.6-215.6	72.6-138.9	0.0241	0.1171	8.54

50 mg 6 MAP/24 h
per os

Tab. 6 : Ausscheidung von C₁₈-, C₁₉- und C₂₁-Steroiden pro 24 Stdn
im Urin vor und während der täglichen Gabe von 50 mg
6 MAP per os bei Pat. 5 (E.M., 41 Jahre; Zustand nach
Ovariectomie beiderseits).
Erläuterung der Abkürzungen siehe Seite 5
Die 17-KS sind angegeben in mg DHA-Äquiv./24 h,
die 17-OHCS in mg DHA-Äquiv./24 h ohne Molekulargewichts-
korrektur. Die eingeklammerten Zahlen geben die Anzahl
der Einzelwerte an.

Bedingungen	17-KS mg/24 h	17-CRGS mg/24 h	PD mg/24 h	PT mg/24 h	Oe ₁ ug/24 h	Oe ₂ ug/24 h	Oe ₃ ug/24 h	Total-Oe ug/24 h
Ohne Therapie	7,6(2)	10.8(2)	0.51(2)	0.13(2)	2.5(2)	2.5(2)	1.4(2)	6.4(2)
50 ug 6 MAP pro 24 Std	5.3(3)	7.3(3)	0.47(3)	0.13(3)	2.5(2)	2.2(2)	1.1(2)	5.8(2)

Tab. 7 : Ausscheidung von HPG pro 24 Stdn im Urin vor und während
der täglichen Gabe von 50 mg 6 MAP per os bei Pat. 6
(A.H., 28 Jahre; Gonadendysgenese)
g = Regressionskoeffizient für die Gültigkeit der Regression
= Präzisionsindex nach GADDUM, L = dessen reziproker Wert
nach WOOLF

Bedin- gungen	Sammel- Urin No.	HMG-E/ 24 Std	Vertrauensgrenzen $P = 0.05$ in HMG-E/24 h		g	λ	L
			in % der ermittel- ten Aktivität				
ohne Therapie 50 mg 6-MAP / 24 h per os	0	43.3	39.0-47.9	90.1-110.7	0.0052	0.0658	15.21
	1	90.3	80.5-101.2	89.1-112.1			
	2	102.1	93.0-112.1	91.1-109.7			
	3	86.9	77.4-97.3	89.1-112.1			
	4	59.1	53.5-65.3	90.4-110.5			
	5	71.0	64.1-78.5	90.2-110.6			

Tab. 8 : Ausscheidung von C₁₈-, und C₁₉- und C₂₁-Steroiden pro 24 Stdn im Urin vor und während der täglichen Gabe von 50 mg 6 MAP per os bei Pat. 6 (A.H., 28 Jahre; Gonadendysgenesie).
Erläuterung der Abkürzungen siehe Seite 5
Die 17-KS sind angegeben in mg DHA-Äquiv./24 h,
die 17-OHCS in mg DHA-Äquiv./24 h ohne Molekulargewichtskorrektur.

Datum	17-KS mg/24 h	17-OHCS mg/24 h	PD mg/24 h	PT mg/24 h	Oe ₁ /24 μg/24 h	Oe ₂ /24 μg/24 h	Oe ₃ /24 μg/24 h	Total-Oe μg/24 h	Bedingungen
24.3.66	11.4	14.7	0.87	0.99	-	-	-	-	ohne Therapie
25.3.	10.5	14.6	-	-	-	-	-	-	
26.3.	10.2	15.5	-	-	3.0	2.9	0.2	6.1	
27./28.3.	11.2	-	0.69	1.07	1.8	1.5	1.5	4.8	50 mg 6 MAP pro 24 / h
29./30.3.	10.1	-	0.56	0.99	2.4	1.0	1.3	4.7	
31.3./1.4.	9.2	-	0.53	0.68	2.1	1.7	1.1	4.9	
2./3.4.	10.0	-	0.55	0.84	3.1	3.7	0.0	6.8	
4./5.4.	7.7	-	0.53	0.68	2.3	4.2	2.1	8.6	

Tab. 9 : Ausscheidung von HPG pro 24 Stdⁿ im Urin der Pat. 1-6
ohne Therapie und die geometrischen Mittel aus den
Einzelwerten der HPG-Ausscheidung pro 24 Stdⁿ im Urin
der einzelnen Pat. während der täglichen Gabe von 6 MAP
per os.

Pat. No.	ohne Therapie		unter Therapie	
	HMG-E/24 h	Vertrauensgrenzen P = 0.05	HMG-E/24 h	Vertrauensgrenzen P = 0.05
1	157.74	140.14-177.71	132.2	61.7-283.2
2	75.76	58.8- 98.57	56.98	26.67-121.7
3	256.34	227.94-289.71	169.5	94.54-304.0
4	113.43	88.32-148.28	77.3	18.05-331.5
5	117.8	88.7-156.2	118.2	51.82-269.8
6	43.3	39.0-47.9	82.3	51.9-130.2

MAP
6

mg
10

MAP
6

mg
15

MAP
6

mg
50

E. Lebenslauf

Am 24. Dezember 1941 wurde ich, Gerhard Leyendecker, als Sohn des Lehrers Gustav Leyendecker und seiner Ehefrau Frieda, geb. Nolte, in Kirchhellen Krs. Recklinghausen geboren.

In Wuppertal-Elberfeld besuchte ich von 1948 bis 1952 die Volksschule, anschließend das Neusprachliche Gymnasium, wo ich am 28. Februar 1961 das Reifezeugnis erwarb.

Das Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1961 an der Philipps-Universität in Marburg. Im Anschluß an die naturwissenschaftliche Vorprüfung setzte ich mein Studium im Sommersemester 1962 in Heidelberg fort, kehrte jedoch zum Wintersemester 1962 wieder nach Marburg zurück, wo ich nach dem fünften Semester im Sommer 1963 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

Das klinische Studium in Marburg beendigte ich am 24. Februar 1967 mit dem Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten

in Marburg:

Amon	Löhr
Berendes	Mahr
Beckmann	Mann
Bommer	Martini
Braun-Falco	Marx
Brück	Neubauer
Buchholz	Niessing
Bücher	Nocke
Dimroth	Petry
Drawert	Rodeck
Du Mesnil de Rochemont	Rohen
Exner	Schleyer
Gedigk	Schmid
Hamm	Schrappe
Hartmann	Schwaiger
Hensel	Seidel
Heuser	Siegert
Hildebrandt	Straub
Hohorst	Streicher
Jacob	Walcher
Knauff	Wendt
Lang	Würterle
Linneweh	

in Heidelberg:

Ferner	Trautwein
Kutscher	Wendt

